

UNIVERSITE DES SCIENCES ET DE LA  
TECHNOLOGIE HOUARI BOUMEDIENE USTHB-ALGER  
**Faculté des Sciences Biologiques**  
Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat d'état en Sciences de la Nature  
Spécialité : Biologie Végétale

*Etude des populations d'olivier de  
Laperrine (Olea europaea subsp.  
laperrinei) du Sahara central algérien  
(Hoggar et Tassili)*  
aspects biologiques et caractérisation moléculaire

**Par : Djamel BAALI-CHERIF**

Mme BOUGUEDOURA Nadia, Professeur à l'USTHB Alger Directrice de thèse  
Soutenue le 03 Décembre 2007

devant le jury composé de : Mme AïD Fatiha Professeur à l'USTHB Alger Présidente Mme  
KHALFALLAH Nadra Professeur à l'UMM Constantine Examinatrice Mr ABDELGUERFI Aïssa  
Professeur à l'INA El-Harrach Examineur Mme NEDJRAOUI Dalila Professeur à l'USTHB Alger  
Examinatrice Mr AMIROUCHE Rachid Maître de Conférences à l'USTHB Alger Examineur Mr  
BESNARD Guillaume Docteur à l'UniLausanne (Suisse) Examineur



# Table des matières

Résumé . . .	5
Abstract: . . .	6
ص خ ل م ل ا . . .	7
AVANT PROPOS . . .	8
LISTES DES ABREVIATIONS . . .	10
INTRODUCTION GENERALE . . .	11
I – Etude bibliographique sur l’olivier de Laperrine . . .	13
1. Origine de sa découverte . . .	13
2. Position systématique . . .	13
2 - 1. La famille des Oléacées . . .	13
2 - 2. Le genre <i>Olea</i> . . .	14
2 - 3. L’espèce <i>Olea europaea</i> . . .	15
2 - 4. Le taxon <i>Olea europaea</i> subsp. <i>laperrinei</i> . . .	17
II – Régions d’études . . .	19
1 - Le Hoggar . . .	19
1 - 1. Situation géographique . . .	20
1 - 2. Le relief . . .	21
1 - 3. L’hydrogéologie . . .	22
2. Le Tassili . . .	22
2 - 1. Situation géographique . . .	22
2 - 2. Le relief . . .	22
2 - 3. La géologie . . .	22
2 - 4. L’hydrogéologie . . .	23
3. Le climat . . .	23
4. Caractères généraux de la flore du Sahara . . .	25
III – Travaux entrepris sur <i>Olea europaea</i> subsp. <i>laperrinei</i> . . .	27
PARTIE A - Etude générale de quelques aspects biologiques . . .	27
1 - Biogéographie . . .	27
2. Ecologie . . .	32
3. Caractères botaniques généraux . . .	35
4. Essais de multiplication par semis . . .	57
5. Conclusion . . .	62
PARTIE B - Apport de l’outil moléculaire dans l’étude des populations de l’olivier de Laperrine et de leurs stratégies de reproduction . . .	63
1 - Introduction . . .	63
2 - Matériel végétal (échantillonnage) . . .	64
3 - Méthodes . . .	67
4 - Traitement des données . . .	69
5 - Résultats et discussions . . .	70
6 - Conclusion . . .	77
Conclusion générale et perspective . . .	79

<b>BIBLIOGRAPHIE . .</b>	<b>81</b>
<b>ANNEXES . .</b>	<b>91</b>
- ANNEXE 1 : Biogéographie . .	91
ANNEXE 2 : Publication de Baali-Cherif Djamel & Besnard Guillaume . .	97
ANNEXE 3 : Publication de Besnard Guillaume et al . .	97
ANNEXE 4 : Les microsatellites . .	98
ANNEXE 5 : PCR/RFLP . .	98
ANNEXE 6 : Préparation du gel d'acrylamide (à 5%) . .	98
ANNEXE 7 : Tableau des matrices des populations du Hoggar et du Tassili(tableau A1) . .	98
ANNEXE 8 : F-statistiques . .	99
ANNEXE 9 : Bouturage . .	101
ANNEXE 10 : Coût de la thèse (estimation) . .	101

---

## Résumé

Etude sur les populations d'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei* Batt. & Trab.) du Sahara central algérien (Hoggar et Tassili) : Aspects biologiques et caractérisation moléculaire

L'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*) est une *Oleaceae* endémique des régions montagneuses du Sahara Central vivant en altitude (1400-2800 m) où les précipitations annuelles moyennes sont de 50 à 100 mm. En Algérie, elle est présente dans les massifs du Hoggar, du Mouyedir, du Tefedest et du Tassili n'Ajjer. Les populations de ce taxon relictuel sont en régression depuis les changements climatiques du Pléistocène. De plus, cette sous-espèce n'a montré aucune trace récente de régénération naturelle, et de ce fait, elle est menacée localement de disparition, ce qui justifie qu'elle doit bénéficier d'urgence d'un programme de préservation. Des études sur plusieurs aspects biologiques (biogéographie, écologie, caractères botaniques, histologie, germination et caractérisation moléculaire par des microsatellites) ont été effectuées sur un nombre d'échantillons relativement exhaustif et couvrant une grande région de notre Sahara central (Hoggar et Tassili) pour mieux connaître ce taxon en vue de le multiplier à grande échelle. Nos résultats confirment que les oliviers du Sud et du Nord de l'Algérie sont phénotypiquement et génétiquement différenciés, bien qu'ils soient probablement sexuellement compatibles. Sur la base de ces résultats, l'olivier de Laperrine doit être considéré comme une sous-espèce du complexe *O. europaea*. Les effectifs de ce taxon dans le sud algérien dépassent quelques centaines de pieds, voire quelques milliers. Grâce à son mode de reproduction asexuée actuel (croissance clonale), ce taxon appartenant à de petites populations, peut maintenir une relativement grande diversité génétique depuis des millénaires et lui évitant une érosion génétique qui aurait eu lieu lors des générations de reproduction sexuée. Devant l'extrême sécheresse prolongée de l'environnement local et le broutement par les animaux, l'olivier de Laperrine adopte une autre stratégie de survie en se rabougrissant sous forme de buissons. Les essais de multiplication par semis donnent des résultats satisfaisants. Cependant, il est encore nécessaire de déterminer si ce mode de multiplication favorise une régression de la diversité génétique due au faible nombre d'individus capables de se reproduire dans les populations. Le bouturage pourrait donc être un moyen alternatif de multiplier le taxon à grande échelle, car de plus, il préserve les qualités génétiques d'adaptation au milieu local. Il est donc possible de réhabiliter l'olivier de Laperrine dans son milieu naturel en le multipliant à grande échelle. Pour cela, il sera nécessaire d'établir des programmes de sauvegarde soutenus par suffisamment de moyens matériels (pépinières, vergers de culture et de comportement...).

Mots clés : ADN, Biogéographie, Biologie, Espèce menacée, Hoggar, Marqueur génétique, Microsatellites, Olivier, *laperrinei*, *europaea*, Tassili.

## Abstract:

Study of the Laperrine's Olive populations (*Olea europaea* subsp. *laperrinei* Batt. & Trab.) of the central Algerian Sahara (Hoggar and Tassili): Biologics aspects and molecular characterisation

The Laperrine's olive (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*) is an endemic *Oleaceae* of mountainous lands of the central Sahara living at high altitudes (1400-2800 m) where the average annual rainfall is comprised between 50 and 100 mm. In Algeria, this relict taxon is found on four massifs: Hoggar, Mouyedir, Tefedest and Tassili n'Ajjer. Their populations are in regression since the climatic changes of the Pleistocene. In addition, this subspecies has never showed a recent natural regeneration, and for this reason, it is an endangered species which must urgently benefit of a preservation program. In order to better know this taxon, a study of some biological aspects (i.e. biogeography, ecology, botany, histo-anatomy, germination and molecular characterisation using microsatellites) was realised on a sample relatively exhaustive and covering a great part of our central Sahara (Hoggar and Tassili). Our results confirm that olives of south and north of Algeria are phenotypically and genetically differentiated, even if they are considered to be sexually compatibles. Based on these results, the Laperrine's olive must be considered as a subspecies of the *O. europaea* complex. South Algerian populations of this taxon should be constituted of several hundreds trees to about a few thousands. Due to an asexual reproduction mode (clonal growth), this taxon can maintain a relatively high genetic diversity, avoiding the genetic erosion due in the sexual reproduction in small populations. In response to a perpetual extreme drought and an over-grazing by animals, the Laperrine's olive adopts another strategy of surviving by stunting like a bush. Tries of multiplication by seeds were successful. Nevertheless, it must necessary to determine if this mode of multiplication could favour a regression of the genetic diversity due to the low number of individuals able to flower and bear fruits. The vegetative propagation must be an alternative mean to multiply the taxon at a great scale, since it may also preserve the genetic qualities of local adaptation. It is then possible to rehabilitate the Laperrine's olive in its natural middle multiplying it at a great scale. It will be necessary to establish conservation programs supported by sufficient materials and means (seed bed, orchards of culture and comportment...).

Keys words: DNA, Biogeography, Biology, Threatened species, Genetic marker, Hoggar, Microsatellite, Olivier, *laperrinei*, *europaea*, Tassili.

## صنخلمل ا

دراسة في مجموعات زيتون ليرين (*Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Batt. & Trab.) ثصحراء الوسطى الجزائرية (التهقار و اتاسيلي): جوانب بيولوجية و تصنيف جيني.

زيتون ليرين (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*, *Oleaceae*) هو شجر زيتي خاص بالمناطق الجبلية من الصحراء الوسطى. يتواجد على ارتفاع يتراوح ما بين 1400م و 2500م حيث متوسط كميات الأمطار السنوية تنحصر ما بين 50 و 100 مم. في الجزائر، هذا الشجر ينمو في جبال الهقار، موبدين، تانسست و تاسيلي ناجر. أعداد بقايا هذا الشجر في تافص و ذلك منذ التغييرات المناخية التي طرقت في حقبة PLEISTOCENE بالإضافة إلى ذلك فإن هذا النوع لم يظهر عليه إلى حد الآن أي ثر جديد حديث. و هذا يحدده بالإنقراض محليا و برشحه للإستغناء من برنامج عاجل للحفاظ عليه. هذا أجريت دراسات على عدد كبير من عينات شجر زيتون ليرين شملت منطقة كبيرة من صحرائنا الوسطى (الهقار و تاسيلي). تناولت هذه الدراسات عدة جوانب بيولوجية (بيوجغرافيا، بيئة، الصفات الكيميائية، دراسة أسجية، فتاش و دراسة وراثية) لمعرفة أفضل لهذا النوع من الزيتون و ذلك لمكانته على نطاق واسع. إن نتائجنا تؤكد أن شجر الزيتون في جنوب و شمال الجزائر مختلفان من حيث الشكل الخارجي و البنية الجينية بالرغم من كونهما ربما متجاوبين جنسيا. وبناء على هذه النتائج فإنه ينبغي أن يعد زيتون ليرين نوعا فرعا من مركب *Olea europaea*. إن أعداد هذا الشجر في الجنوب الجزائري تزيد عن بضخ مئات و ربما عن بضخ آلاف و بفضل طريقة تكاثره اللاجنسي (نمو تاسخي) فإنه يحافظ نسبيا على تعدديه الجينية و ذلك منذ آلاف السنين، بها يتفادى الانجراف الجيني الذي يسببه تكاثر جنسي في المجموعات قليلة. في مواجهة قسوة و استمرارية جفاف المحيط لمحي و آكلات الحنطب التي تتغذى عليه فإن شجر الزيتون ليرين قد اعتمد إستراتيجية أخرى للاستمرار في الحياة المتمثلة في الإنكماش على ذلك على شكل شجيرات. إن محاولات مكانة هذه النوع من الزيتون عن طريق زراعة البذرة قد أعطت نتائج مرضية غير فه يتطلب تحديد ما إذا كانت هذه الطريقة التكاثرية تقلص من تعدديه الجينية بسبب تلك الأثره القابلين للتكاثر في المجموعات. قد يكون التفسير طريقة بديلة في عملية مكانة هذا النوع من الزيتون على نطاق واسع بالإضافة إلى كونه يحافظ على الخصائص الجينية التي تمكنه من التأقلم مع الوسط لمحي. إعادة الإعتار لشجر الزيتون ليرين في وسطه الطبيعي ممكنة وذلك بمكانته على نطاق واسع وهذا يتطلب صياغة برنامج للحفاظ عليه مدعومة بإمكانيات مادية كافية (مشتلات، بساتين زراعة...).

**كلمات المفتاح:** شجر الزيتون، ليرين، DNA، بيوجغرافيا، بيولوجية، نوع في خطر، هقار، تاسيلي، مصنف جيني.

## AVANT PROPOS

A l'origine, ce travail entre dans le cadre du grand projet de recherche du Laboratoire de Recherche sur les Zones Arides (LRZA) de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène (USTHB) de Bab-Ezzouar (Alger) : « Amélioration et valorisation de quelques arbres et arbustes menacés d'extinction du Sahara central algérien (Hoggar et Tassili) ».

Il a été réalisé grâce au financement du laboratoire de recherche sur les zones arides (LRZA) dans le cadre d'un projet de recherche sur les phytoressources des régions arides dont l'olivier de Laperrine du Sahara central d'Algérie (Hoggar et Tassili) fait partie. Il est mené à bien grâce à l'aide, aux conseils, aux orientations, aux encouragements et aux critiques de très nombreuses personnalités et institutions, qu'il m'est très agréable aujourd'hui de remercier.

Tout d'abord, je resterai toujours reconnaissant à ma directrice de thèse, Madame Nadia BOUGUEDOURA, Professeur à l'USTHB, de m'avoir proposé ce thème de recherche très intéressant et de m'avoir encadré jusqu'à la fin de ce travail. Je suis encore particulièrement sensible à son attention, sa bienveillance et son appui sans faille qui ont été des encouragements décisifs le long de cette étude. Ses suggestions, ses enseignements et son soutien m'ont été très précieux. Je lui exprime ma vive et respectueuse gratitude.

Je resterai également reconnaissant au Dr Guillaume BESNARD, chercheur de l'Université de Lausanne (Suisse), qui m'a accueilli en stage dans son laboratoire et que je considère comme un co-directeur de cette thèse. Grâce à ses compétences dans le domaine de la biologie moléculaire de l'olivier, j'ai pu avancer très rapidement et faire aboutir ces travaux. Sans son aide efficace, ce travail n'aurait pas été aussi accompli. Je suis particulièrement reconnaissant à son accueil toujours chaleureux et attentionné, à ses conseils et à ses orientations. Dans ce même laboratoire, je ne peux oublier de remercier madame le Professeur GALLAND Nicole, chef de l'équipe de recherche, pour m'avoir facilité l'accès à son laboratoire, le Professeur HIJRI Mohamed pour son concours à la réalisation de quelques observations microscopiques sur le pollen, et le Doctorant CHRISTIN Pascal-Antoine pour son aide sur la deuxième partie de ce travail.

J'ai été très sensible aux conseils précieux du Dr Pablo VARGAS du Real Jardin Botánico de Madrid (Espagne) qui m'a reçu dans son laboratoire et qui, grâce à un entretien et aux enrichissements apportés à ce sujet, a suscité la bonne orientation de la 2<sup>ème</sup> partie du travail.

Madame AïD Fatiha, Professeur à l'USTHB a accepté sans hésitation de présider le jury d'examen. Je lui exprime ma vive gratitude et mes remerciements les plus chaleureux.

Madame KHALFALLAH Nadra, Professeur à l'Université de Constantine, Monsieur ABDELGUERFI Aïssa, Professeur à l'INA El-Harrach, Madame NEDJRAOUI Dalila, Professeur à l'USTHB et Monsieur AMIROUCHE Rachid, Maître de conférences à l'USTHB ont pris également de leur temps pour examiner cette thèse. Je leur adresse ma plus profonde reconnaissance.

Sans le soutien technique et les moyens matériels, en particulier le véhicule de l'Institut National de Recherche Forestière (INRF), ce travail n'aurait pu être mené à bien. J'adresse ma chaleureuse et profonde gratitude à son Directeur, Monsieur NEDJAH D., et à tout son personnel pour les facilités qu'ils m'ont accordées afin de réaliser les missions sur le terrain dans la région de Tamanrasset. C'est pourquoi également, je tiens à remercier le personnel de la station de Tamanrasset pour son soutien et son aide sans égal au cours de mes différentes missions de



prospection des stations pour l'échantillonnage de l'olivier de Laperrine, à savoir : Mr SAHKI A. (ex. Directeur), qui, grâce à lui, on a pu prendre connaissance des premières stations à laperrinei dans le Hoggar, Mr ABDELLAOUI S. (actuel Directeur), Mme SAHKI R., Mr BENARAR D. et Mr CHEBLI A. (Chercheurs), Mr LAÏD (Chauffeur), Mr KHOLO (Guide) et enfin sans oublier Mr BENADJAOU D. et Mr CHENOUNE K. (anciens chercheurs de la station).

Je remercie Mr BETROUNI R. (Directeur du patrimoine culturel) au Ministère de la culture, et Mr AMBEZE H. (Directeur de l'ONPTassili à Djanet) ainsi que le guide, Mr ABDALLAH du parc de Tassili de m'avoir aidé à effectuer une mission scientifique de collecte d'échantillons au parc du Tassili dans la région de Tamrit (Djanet).

Je remercie également Mr SACI A. (Directeur du centre climatologique national) de l'ONM Algérie de m'avoir communiqué les données météorologiques récentes de Djanet et Tamanrasset.

Je dis ma profonde gratitude à toutes celles et à tous ceux qui m'ont apporté leur aide durant ce travail, en particulier :

- de l'INA El-Harrach: Mr BELLAL M. (ex. Directeur de l'INA), Mr DAOUD Y. (actuel Directeur), Mr AIDAOUI A. (Président du CS de l'INA), Mr BOUZNEZ Z. (Directeur de la DPGR de l'INA), Mme LOUANCHI Meriem. (ex. Chef de Dpt de Botanique), Mlle BENHOUBOU Salima. (actuelle Chef de Dpt de Botanique), Mr ABDELKRIM H. (Président du CS, Dpt de Botanique), Mr KEDAD A. (Enseignant-Chercheur, Dpt de botanique), Mr BENDADA A. (Enseignant de Proba-stat), Mmes KHELIFI H. et FARSI B. (Enseignantes de botanique-écologie), au défunt Ammi BELOUED A. (technicien de l'herbier de l'INA), Mme BENZAHIR Fatima. (Ingénieur de labo/Dpt Botanique), Mr Abdelkader (chef du service du tirage) et à Mr MAHMOUDI M. du secrétariat des annales de l'INA.

- du LRZA : Mme KHAMMAR Farida. (ex. Directrice), Mlle AMIRAT Zaina. (actuelle Directrice) et Mlle BOUHIREZ Louiza. (Chef d'équipe).

- de l'UMMTizi-Ouzou : Mme Khiali (enseignante au Dpt des sciences agronomiques).

- Le MESRS, à travers l'ANDRU et le MATE à travers l'ONEDD pour la subvention du projet de recherche.

Mes collègues, du laboratoire de Biologie végétale (INA), pour leur bienveillance sur le bon déroulement du module de BV durant mon détachement et leur soutien moral : Mr BOULFEKHAR MN, Mme BOUGHRAROU F., Me ZERROUKI N., Mlle BOUREGHDA H., Mlle ZERMANE N., Me SELLAMI S., Mlle BENSLIMANE H., Mlle KADRI N., Mlle SALHI N.L., Mlle MERABTI N. (défunte), Mlle GHIAT N., Mlle MOKHTARI A., Mr. AZIRI H. et Mr. DEBBI A.

- Ma famille, ma mère, ma femme (Yasma née Bourmel), mes sœurs et frères pour leur soutien moral.

- Merci enfin à tout ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## LISTES DES ABREVIATIONS

- ADNc : ADN chloroplastique
- ADNn : ADN nucléaire
- AFLP : Amplified Fragment Length Polymorphism (Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés)
- BET : Bromure d'éthidium
- BP : Before Present (nombre d'années avant 1950)
- CT : Coupe transversale
- CTAB : Cétyl-N,N,N,triméthylammonium bromure
- FAA : Formaldéhyde alcool
- GPS : Global positioning system
- IRD : Institut de Recherche pour le Développement
- MO : Microscope optique
- MP : Microscope photonique
- ONM : Office national de la météorologie
- Pb : Paire de bases = Unité de longueur des séquences de l'ADN
- PCR : Polymerase Chain Reaction (Réaction de polymérisation en chaîne)
- PCR-RFLP : Polymerase Chain Reaction/Restriction Fragment Length Polymorphism
- RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA (ADN polymorphe amplifié au hasard)
- RFLP : Restriction Fragment Length Polymorphism (Polymorphisme de longueur des fragments de restriction)
- SAD : Shared allele distance = une distance génétique (d) entre chaque paire d'individus. Celle-ci se base sur la proportion d'allèles en commun entre chaque paire d'individus ( $d = 1 - \text{proportion d'allèles en commun}$ ).
- SSR : Single Sequence Repeat (séquences microsatellites)

---

# INTRODUCTION GENERALE

Dans les massifs montagneux du Sud de l'Algérie, l'olivier de Laperrine fait partie des espèces menacées localement de disparition avec entre autres des ficus, les balanites, les pistachiers et les acacias (Quézel, 1997). Sur les plans biologique et socio-économique, ces arbres constituent des sources de gènes (Harfouche, 1996) pouvant être utilisés dans la lutte contre la désertification (Hadjej, 1991 ; F.A.O., 1992). Ils sont également des sources potentielles d'énergie, de bois de construction ou d'industrie artisanale, d'aliments et de pharmacopée traditionnelle, mais représentent également un patrimoine potentiellement utile pour la promotion du tourisme dans les montagnes Sahariennes. Pour mieux valoriser ces phyto-ressources, il est nécessaire d'avoir des données préliminaires sur chaque espèce en particulier sur leur biogéographie, leur écologie, leur variabilité génétique ou encore leur intérêt agronomique (Chenoune, 2005).

L'olivier de Laperrine [*Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Batt. & Trab.) Ciferri] est une Oléaceae endémique et relique des régions montagneuses du Sahara central (Green, 2002). En effet, c'est une ressource génétique importante par la qualité de sa résistance à la sécheresse pouvant être potentiellement utilisée comme porte greffe des différentes variétés d'olivier cultivées dans nos régions arides. Sa présence depuis des millénaires dans un milieu vaste et isolé où les flux génétiques entre populations sont très limités lui confère un patrimoine génétique très conservé. De ce fait, elle pourrait être utilisée comme modèle de référence pour étudier la dynamique des flux de gènes dans les populations d'*O. europaea*, pouvant aussi donner des indications sur les origines et l'évolution de l'olivier méditerranéen.

Nos premières recherches (bibliographiques et les sorties sur le terrain) en 1996-1997 ont montré qu'elle est présente dans son milieu naturel en nombre relativement restreint et les quelques travaux qui lui ont été consacrés sont très sommaires. Duveyrier (1864) signala sa présence pour la première fois en étudiant le pays des Touaregs, suivi par Battandier & Trabut (1911) qui décrivent l'histoire de sa découverte dans le Hoggar. Par la suite, quelques auteurs ont donné des descriptions morphologiques de ce taxon et ont déterminé sa distribution géographique d'une façon relativement exhaustive dans le Hoggar et le Tassili (e.g. de Saint-Laurent, 1932 ; Maire, 1933 ; Benichou, 1962 ; Quézel, 1965 ; Ozenda & Santa, 1990). Benichou (1962) demeura le seul à avoir fait une recherche critique en comparant l'olivier de Laperrine des massifs sahariens (Hoggar, Aïr et Djebel Mara) à celui du bassin méditerranéen sur les plans morphologique, écologique, histo-anatomique et botanique dans le but d'enlever l'ambiguïté sur sa position systématique qui était contestée. En effet, le souci majeur de l'ensemble de ces travaux fut de situer sur le plan taxonomique cet arbre du Sahara central par rapport à l'olivier du bassin méditerranéen. En particulier, s'agit-il d'une espèce à part entière ou bien est-ce un olivier d'origine méditerranéenne adapté aux nouvelles conditions environnementales du Sahara central ? Aucun des travaux antérieurs n'a pu répondre sans équivoque à cette question fondamentale. Il est donc apparu que ce taxon de notre Sahara central mérite une étude approfondie afin de mieux le connaître pour pouvoir le préserver d'une menace d'extinction.

Ainsi, avec des moyens matériels limités, nous nous sommes lancés en 1998 à réaliser ce travail dans un territoire (Hoggar et Tassili) vaste et vierge tout en donnant la

priorité à l'étude des aspects les plus abordables tels que la répartition géographique (en vue de l'établissement d'un inventaire), l'écologie (milieu de vie, type d'association) et la morphoanatomie comparée (pour établir le lien spécifique avec l'olivier de l'Algérois, le Zeboudj). Des essais de germination de graines ont également été effectués dans le but de connaître quelques éléments de réponse sur les capacités de multiplication. L'ensemble de ces travaux a fait l'objet de mémoires d'étude de graduation, de publications nationales et de communications orales (Benarar & Bouguedoura, 2000 ; Baali-Cherif *et al.*, 2002).

Les études morphoanatomiques et biologiques n'ayant pas abouti à une clarification nette sur la position systématique de l'olivier de Laperrine, nous nous sommes donc tournés vers l'usage des marqueurs moléculaires. Ces outils ont montré leur efficacité dans la classification du complexe *Olea europaea* L. (e.g. Angiolillo *et al.*, 1999 ; Besnard, 1999 ; Hess *et al.*, 2000 ; Hess *et al.*, 2000 ; Médail *et al.*, 2001 ; Rubio de Casas *et al.*, 2006). Le contact avec des spécialistes de l'olivier (Vargas P. et Besnard G.) a permis d'orienter les travaux vers l'étude de la variabilité génétique de l'olivier de Laperrine par l'utilisation de marqueurs microsatellites nucléaire et chloroplastique sur les populations du Hoggar et du Tassili. Ceux de l'Air du Niger ayant fait parallèlement l'objet de mêmes travaux en collaboration avec Anthleme F. (Anthelme *et al.*, 2008).

Les objectifs généraux des travaux réalisés à partir de 1996 étaient de montrer l'urgence de la réhabilitation de l'olivier de Laperrine en tant que taxon menacé dans notre Sahara central afin : 1) d'établir son importance, de mieux connaître les effectifs de ses populations et d'apprécier son comportement dans son biotope, 2) de préciser sa taxonomie sans ambiguïté et de mieux cerner ses relations avec les autres populations du complexe *O. europaea*, et 3) de mieux comprendre sa stratégie de survie.

Après une étude bibliographique sur l'olivier de Laperrine et une esquisse de la région d'étude (situation géographique, relief, hydrologie, météorologie, végétation...), ce manuscrit de thèse est subdivisé en deux parties. La première partie rapporte une étude biologique générale du taxon (biogéographie, écologie, aspects botaniques et germination). Ces données vont permettre notamment de préciser l'importance de son effectif et l'architecture de l'arbre, de lever la controverse de sa position systématique et d'appréhender les possibilités de multiplication traditionnelle. La deuxième partie porte sur la caractérisation à l'aide de marqueurs microsatellites de plusieurs populations d'olivier de Laperrine du Hoggar et du Tassili afin d'une part, de mesurer la diversité génétique de ce taxon en comparaison de l'olivier méditerranéen et d'autre part, d'appréhender ses stratégies de reproduction (croissance clonale, flux de gènes) et de tenter de retracer sa phylogéographie au sein du groupe d'oliviers du Sahara central.

# I – Etude bibliographique sur l'olivier de Laperrine

## 1. Origine de sa découverte

Avant que la présence de l'olivier de Laperrine ne soit signalée par Duveyrier en 1864 dans le Hoggar, les populations locales (les Touaregs) l'appelaient déjà en Tamahaq « aléou » (terme qui se rapproche phonétiquement à *Olea*). D'après Maire (1933), les explorateurs militaires du général Laperrine récoltèrent un grand nombre d'échantillons de différentes espèces dans le Sahara central. Leurs échantillons furent envoyés au service botanique du gouvernement général de l'Algérie en 1911 puis en 1913 et firent l'objet d'une première publication de Battandier & Trabut (1911). Ils décrivent entre autres nouveautés remarquables, « *Olea laperrini* », qu'ils dédièrent à son « inventeur » (le général Laperrine), *Ficus teloukat* et *Myrtus nivellei*. Des inflorescences (fournies par le Dr Bonnet en 1920) et fruits mûrs (fournis par Monod en 1927) furent étudiés pour la première fois par Maire (1933). En 1928, lors d'une mission au Sahara central, l'olivier du Hoggar, ainsi nommé à l'époque, fût récolté par Maire dont il établissait par la suite sa nouvelle diagnose<sup>1</sup> (Maire, 1933). Depuis cette date, l'olivier de Laperrine a été observé et récolté par de nombreux auteurs : au Djebel Mara (République du Soudan) par Andrews (1952) et Brunneau de Miré (1960), au Tassili par Leredde (1957), dans l'Aïr (au Bagzane et au Greboun ; Niger) par Killian (1945) et Brunneau de Miré & Gillet (1956), et enfin au Hoggar et notamment par Benichou (1962).

## 2. Position systématique

### 2 - 1. La famille des Oléacées

L'olivier est une espèce qui appartient à la famille des *Oleaceae*. On y trouve des espèces forestières [frênes (*Fraxinus*)] et ornementales [lilas (*Syringa*), troène (*Ligustrum*), Jasmin (*Jasminum*), *Forsythia*]. La plupart des espèces sont des arbres ou des arbustes, certaines sont des lianes. La systématique de cette famille a été traitée par différents auteurs (e.g. de Candolle, 1844 ; Taylor, 1945 ; Johnson, 1957 ; Rohwer, 1993 ; Wallander & Albert, 2000) et il reste encore quelques incertitudes sur la position de certains taxons en particulier sur le statut de certains groupes d'espèces (e.g. *Tetrapilus*, *Linociera*) actuellement classés dans les genres *Olea* et *Chionanthus* (Johnson, 1957 ; Wallander & Albert, 2000 ; Besnard *et al.*, 2002a). Récemment, une révision de la systématique des *Oleaceae* a été proposée par Wallander et Albert (2000) basée sur des données moléculaires (phylogénie basée sur des séquences de l'ADN plastidique) et non-moléculaires (nombre chromosomique, anatomie

<sup>1</sup> Diagnose : Ensemble de caractères permettant de définir le type d'une espèce.

du bois et des fruits et critères biochimiques). On reconnaît désormais cinq tribus dans les Oléacées et 25 genres (environ 600 espèces) :

- Myxopyreae (qui regroupe les genres *Myxopyrum*, *Nyctanthes* et *Dimetra*),
- Fontanesieae (genre *Fontanesia*),
- Forsythieae (genres *Abeliophyllum* et *Forsythia*),
- Jasmineae (genres *Jasminum* et *Menodora*),
- et Oleae (qui était appelée précédemment Oleoideae).

L'olivier est classé dans les Oleae. Le nombre chromosomique de base de cette tribu est de 23 (contrairement aux autres tribus dont le nombre chromosomique de base varie entre 11 et 14). Il a été suggéré que cette tribu aurait une origine allopolyploïde (Taylor, 1945). Cette tribu a été également subdivisée en quatre sous-tribus par Wallander & Albert (2000) :

- Ligustrinae (genres *Syringa* et *Ligustrum*),
- Schreberinae (genres *Schrebera* et *Comoranthus*),
- Fraxininae (genre *Fraxinus*),
- et Oleinae (qui regroupe 12 genres, dont le fruit caractéristique est une drupe).

L'olivier est classé dans cette dernière sous tribu avec notamment les genres *Chionanthus*, *Noronhia*, *Nestegis*, *Osmanthus*, *Phillyrea* et *Picconia* avec lesquels il y a eu de nombreuses confusions dans le passé (pour une revue voir Green, 2002).

## 2 - 2. Le genre *Olea*

---

Quand de Candolle (1844) inscrivait les *Oleaceae* au Prodrôme, le genre *Olea* comptait 29 espèces. Cependant, comme mentionné auparavant, de nombreuses espèces ont été depuis reconsidérées et classées dans d'autres genres (Green, 2002). Actuellement, la révision du genre *Olea* proposée par Green (2002) compte 33 espèces. Cet auteur a proposé sur la base des données morphologiques une clé de détermination du genre (**Encadré 1**). Trois sous-genres (*Tetrapilus*, *Paniculatae* et *Olea*) et deux sections (*Ligustroides* et *Olea*) sont ainsi reconnus.

- Le sous-genre *Tetrapilus* regroupe 23 espèces d'Asie du Sud-Est. Il reste cependant une grande incertitude quant à la position de ce sous-genre dans le genre *Olea*. En particulier Johnson (1957) proposait de le considérer comme un genre à part entière. Cette vision a été récemment supportée par des données moléculaires (Wallander & Albert, 2000 ; Besnard *et al.*, 2002a).
- Le sous-genre *Paniculatae* correspond à l'espèce *Olea paniculata* R. Br. qui est présente dans les forêts des zones humides du Pakistan jusqu'en Nouvelle Calédonie.
- Enfin, le sous-genre *Olea* est principalement distribué en Afrique où il se serait diversifié (Besnard *et al.*, 2002a ; Terral *et al.*, 2004). D'après Maley (1980), basé sur des études paléobotaniques du pollen, il existerait bien avant le Pliocène et fait donc partie des taxons tropicaux. Le sous-genre *Olea* est subdivisé en deux sections qui se seraient séparées à la fin de l'Oligocène ou au début du Miocène (environ 10 - 20 millions d'années) ; (d'après des datations moléculaires ; G. Besnard & R. Rubio de Casas, com. pers.):

(i) La section *Ligustroides* est représentée par huit espèces africaines (principalement en Afrique du Sud et à Madagascar) dont l'espèce type est *Olea capensis* L. (Green, 2002). Il est supposé que cette section correspond à un complexe d'espèces (Besnard *et al.*, 2002a).

(ii) La section *Olea* correspond au complexe de l'olivier (ou complexe *Olea europaea*). Cette espèce est présente depuis l'Afrique du Sud jusqu'en Chine, en Méditerranée, en Macaronésie (Canaries et Madère) et enfin dans les montagnes sahariennes. On retrouve dans cette section des taxons inter-fertiles susceptibles d'être utilisés dans des programmes d'amélioration génétique de l'olivier cultivé.

1 - Feuilles en position abaxiale sans domatie (petit creux dans la feuille servant de gîte pour les insectes) à l'aisselle de la nervure centrale et nervures primaires.....	2
1 - Feuilles en position abaxiale avec domatie à l'aisselle de la nervure centrale et nervures primaires .....	<b>Sous genre <i>Paniculatae</i> P.S. Green</b>
2 - Feuilles glabres à l'exception de trichomes peltés denses ou rares, parfois dentées, inflorescence complètement glabres, inflorescences terminales ou axillaires, tube de la corolle très court .....	<b>Sous genre <i>Olea</i> ..... 3</b>
2 - Feuilles avec trichomes peltés sombres (en général fixés), parfois velues, bordures de la feuille entières ou dentées, inflorescences toujours axillaires, fréquemment velues, tube de la corolle manifeste, souvent bien développé .....	<b>Sous genre <i>Tetrapilus</i> (Lour.) P.S. Green</b>
3 - Feuilles densément couvertes de trichomes peltés cortigus ou chevauchants particulièrement abaxiaux, tube du calice plus ou moins membraneux.....	<b>Section <i>Olea</i> (= complexe <i>Olea europaea</i> L.)</b>
3 - Feuilles avec trichomes peltés dispersés souvent plis ou moins fixes à la surface de la feuille, inflorescences surtout terminales et parfois axillaires, calice plus ou moins coriace .....	<b>Section <i>Ligustroides</i> Benth. &amp; Hook</b>

**Encadré 1** : Clé dichotomique de détermination des sous genres et section du genre *Olea* L (*Oléaceae*)

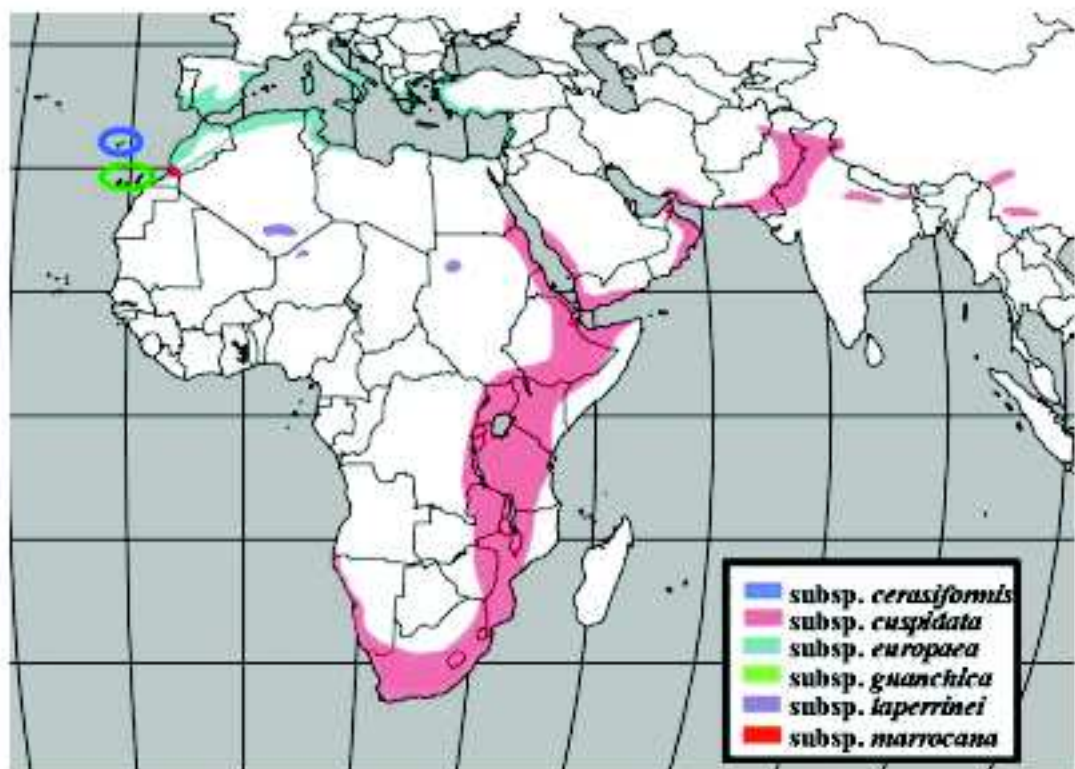
## 2 - 3. L'espèce *Olea europaea*

C'est Linné, en 1753 qui donna le nom d'*Olea europaea* à l'olivier. Nomination impropre, parce que cet auteur croyait à cette époque, que cette espèce vivait seulement en Europe.

**Le concept de complexe *Olea europaea*** : L'idée de complexe *Olea europaea* existe déjà, sans qu'elle soit réellement mentionnée, quand Ciferri & Breviglieri (1942) divisèrent l'espèce en trois grandes sous espèces (i.e. *euromediterranea*, *laperrini* et *cuspidata*). Chevalier (1948) rajouta à cette subdivision *Olea chrysophylla* qui selon lui présente une grande aire de répartition (Méditerranée, Macaronésie, Afrique, Arabie, Himalaya). Mazzolani & Altamura (1978, 1981) ont ensuite tenté de réviser la classification du genre *Olea* sur la base de la morphologie et la biogéographie des taxons mais leur révision était sérieusement erronée (Green & Wickens, 1989 ; Besnard *et al.*, 2002a). Green & Wickens (1989) ont étudié les formes apparentées à l'olivier sur la base de la morphologie, la caryologie, l'anatomie, la palynologie et la biochimie. Ils ont constaté que les échantillons d'oliviers provenant de diverses régions (îles des Canaries, Madère, Bassin méditerranéen, Chine - Himalaya, Est et Sud de l'Afrique) et décrits par différents auteurs (e.g. Linné, 1753 ; Ciferri & Breviglieri, 1942 ; Battaglia & Breviglieri, 1955 ; Benichou

1960 ; Briggs, 1970 ; Mazzolani & Altamura 1978, 1981 ; Zohary & Hopf, 2000) seraient inter-fertiles et constituent ce qu'ils ont appelé le complexe *Olea europaea*. Quatre sous-espèces (*europaea*, *laperrinei*, *cerasiformis* et *cuspidata*) ont été tout d'abord distinguées. Plus récemment, Vargas *et al.* (2001) ont proposé la distinction de deux nouvelles sous-espèces (*guanchica* et *marroccana*), ce qui a été indiscutablement supporté par de récentes évidences cytologiques démontrant que les trois sous-espèces du Nord Ouest de l'Afrique ont chacune un niveau de ploïdie spécifique [e.g. subspp. *guanchica* (2x), *cerasiformis* (4x), *marroccana* (6x) ; Besnard *et al.*, 2008]. Des évidences génétiques ont également suggéré l'existence de nombreuses hybridations entre ces différents taxons durant le Pliocène et le Pléistocène (Rubio de Casas *et al.*, 2006 ; Besnard *et al.*, 2007c). Enfin, quelques hybrides naturels ou obtenus par croisement contrôlé ont été observés (*europaea* x *cuspidata*, *cuspidata* x *europaea* et *laperrinei* x *cuspidata* ; Besnard *et al.*, 2001 ; 2008).

Green (2002) a ainsi proposé une dernière révision du complexe *Olea europaea* (**Encadré 2**) et la carte de distribution des formes natives du complexe *O. europaea* (Besnard *et al.*, 2007) dans le monde est représentée en **figure 1**.



**Figure 1.** Distribution naturelle du complexe *Olea europaea* dans le monde (Rubio de Casas *et al.*, 2006)

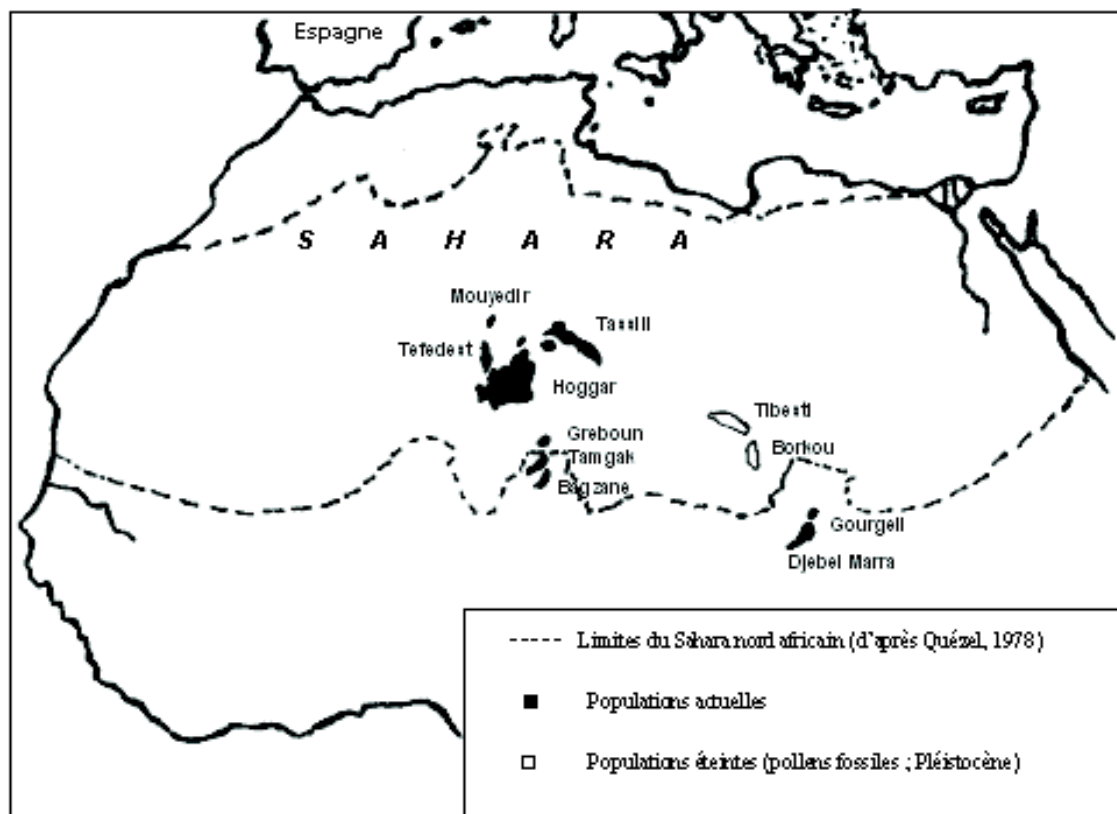


<b>1 - <i>Olea europaea</i> subsp. <i>europaea</i></b>	
a - var <i>sylvestris</i> (Miller) Lehr. = Oléastres	Bassin méditerranéen
b - var <i>europaea</i> = cultivars	Bassin méditerranéen
<b>2 - <i>Olea europaea</i> subsp. <i>laperrinei</i> (Batt. &amp; Trab.) Ciferri</b>	Massifs du Sahara central
<b>3 - <i>Olea europaea</i> subsp. <i>maroccana</i> (Greut. &amp; Burd.) P. Vargas et al.</b>	Haut Atlas marocain
<b>4 - <i>Olea europaea</i> subsp. <i>guanchica</i> P. Vargas et al.</b>	Iles des Canaries
<b>5 - <i>Olea europaea</i> subsp. <i>cerasiformis</i> (Webb &amp; Berth.) Kunk. &amp; Sund.</b>	Madère
<b>6 - <i>Olea europaea</i> subsp. <i>cuspidata</i> (Wall.) Ciferri</b>	Afrique du Sud jusqu'en Chine

**Encadré 2** - Les six sous espèces du complexe *Olea europaea* L. et leur localisation

## 2 - 4. Le taxon *Olea europaea* subsp. *laperrinei*

Depuis sa découverte en 1864 par Duveyrier, l'olivier de Laperrine ne fut décrit qu'assez tardivement par Battandier & Trabut (1911). En 1942, il a été considéré pour la première fois comme une sous-espèce d'*O. europaea* par Ciferri & Breviglieri (1942). Par la suite, Benichou (1962) et Wickens (1978) le considèrent encore comme une espèce ayant le même rang que l'olivier du bassin méditerranéen dans la classification du genre *Olea*. La délimitation de l'aire de répartition de ce taxon fut encore récemment discutée. D'après Quézel (1995), la forme somalienne appelée *Olea somaliensis* Bak. peut être considérée comme une forme de l'olivier de Laperrine avec des feuilles très étroites. Cette supposition n'a pas été retenue par Green (2002) dans sa monographie sur le genre *Olea*. Cependant, Green (2002) indiqua également que la population d'olivier (appartenant à la sous-espèce *cuspidata*) localisée sur le Mont Kulal au nord du Kenya (altitude : 1000 à 2300 m) présente aussi des caractéristiques (feuilles lancéolées très étroites) de l'olivier de Laperrine. Jahandiez & Maire (1934) assimilèrent un singulier olivier du Maroc présent dans les contreforts du Haut Atlas comme l'olivier de Laperrine. Cette population est aujourd'hui considérée comme la sous-espèce *maroccana* (Médail et al., 2001). Cette confusion eut lieu du fait de l'absence de fruits et d'inflorescences sur les spécimens observés. Actuellement, on considère que l'olivier de Laperrine est uniquement distribué dans le Sahara central africain (Maire, 1934 ; Quézel, 1958 ; Benichou, 1962 ; Green & Wickens, 1989 ; Ozenda & Santa, 1990 ; Vargas et al., 2001 ; Médail et al., 2001 ; Baali-Cherif et al., 2006) en Algérie dans les massifs du Hoggar, du Tassili, du Tefedest et du Mouyedir, au Niger dans l'Aïr (principalement dans les massifs du Greboun, du Bagzane et du Tamgak) et au Soudan dans le Djebel Marra et le Gourgeil (**figure 2**).



**Figure 2.** Carte de répartition de l'olivier de Laperrine en Afrique

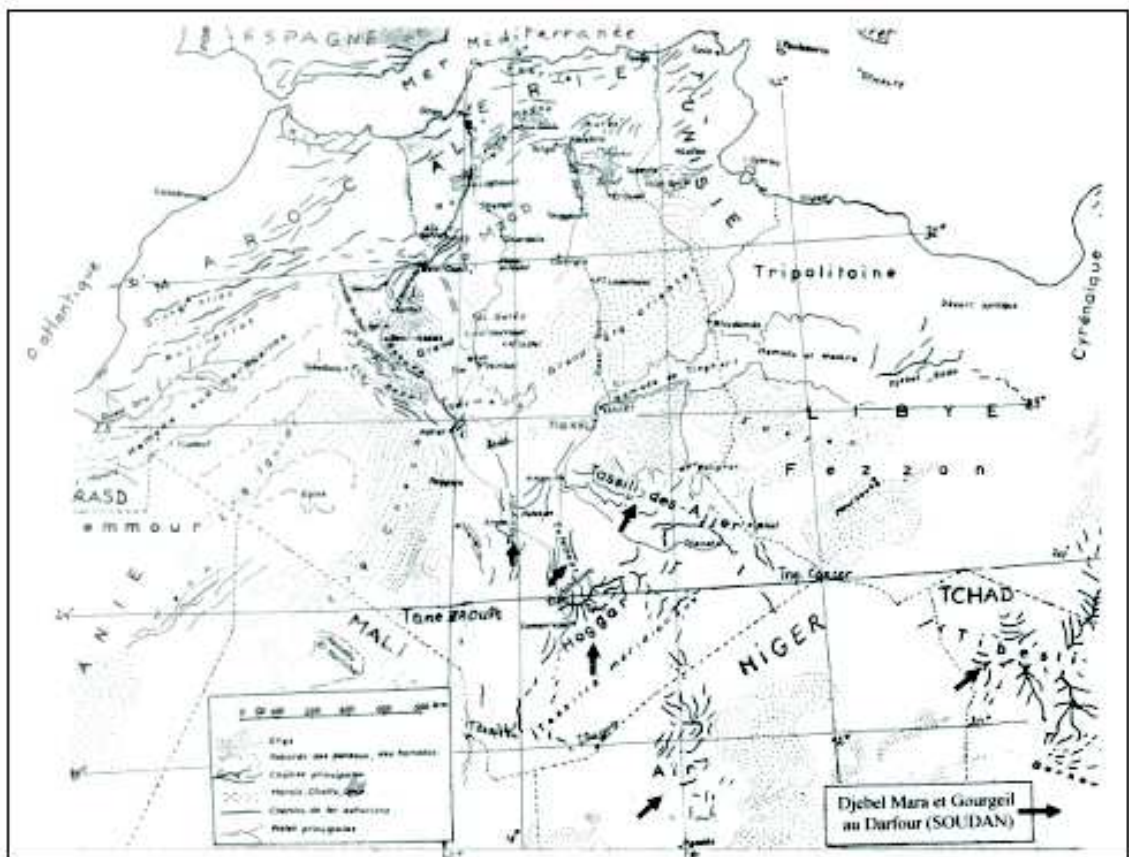
Notons que certains auteurs le transcrivent « *laperrini* » (Cifferri & Breviglieri, 1942 ; Benichou, 1962). On peut le trouver également dans la littérature oléicole sous le terme impropre « *Olea buxifolia* », allusion faite à l'arbre de *laperrinei* quand il est trop brouté ; Il ressemble alors à un Bonzaï (site : [www.sahar.nature.com](http://www.sahar.nature.com) ).

Nous avons décrit la position systématique de l'olivier de Laperrine au niveau de la famille, du genre et du complexe *O. europaea*. Nous n'avons en aucun cas traité les variétés de l'olivier. Toutefois, une analyse exhaustive sur la position systématique de l'olivier d'une façon générale est donnée par Besnard (1999) dans son étude de la diversité génétique de l'olivier cultivé et des formes sauvages apparentés à l'aide de marqueurs moléculaires et par Green (2002) sur la base des caractères morphologiques et de données biogéographiques.

Dans ce travail, afin de comparer l'olivier de Laperrine avec un taxon apparenté, nous avons également considéré quelques oléastres (*Olea europaea* subsp. *europaea* var. *sylvestris*) de l'Algérois appelés localement Zebboudj.

## II – Régions d'études

D'après les travaux de Maire (1933), Quézel (1954), Ozenda (1990) et Benichou (1962), en Algérie, l'olivier de Laperrine est présent dans les quatre massifs montagneux du Sahara central (Hoggar, Tassili, Tefedest et Mouyedir ; **figure 3**). Vu l'étendu de ces territoires, nous ne l'avons prospecté que dans le Hoggar et le Tassili. La description de ces deux régions donne davantage de renseignements sur les stratégies de maintien de ce taxon en conditions environnementales très arides.



**Figure 3.** Carte de situation des massifs montagneux à olivier de Laperrine dans le Sahara central africain ( ). Ce taxon est actuellement présent dans les massifs algériens du Hoggar, Tassili n'Ajjer, Tefedest et Mouyedir. Par contre, il a disparu du Tibesti (Tchad), bien que des pollens attestent de sa présence au Pléistocène (Quézel, 1978).

### 1 - Le Hoggar

Le Hoggar est la partie la plus méridionale du Sahara algérien comportant des particularités naturelles et biologiques. On y observe une diversité de milieux, une variété de structures et de paysages (Verlet, 1974). Ce massif est appelé par ses autochtones Touaregs "Ahaggar".

## 1 - 1. Situation géographique

---

C'est un ensemble montagneux dont les sommets varient entre 2000 et 3000 m, compris entre 21 et 25° de latitude Nord et entre 2 et 6° de longitude Est (Le Houérou, 1992). Il s'étend sur environ 450000 Km<sup>2</sup> et a été érigé en parc national depuis 1987 sous la dénomination "Office du Parc National de l'Ahaggar". Il est traversé par le tropique du Cancer à environ 85 Km au Nord de la ville de Tamanrasset. Le Hoggar est limité au Nord par le Tidikelt, à l'Ouest par le Tanezrouft, à l'Est par les Tassilis N'Ajjer et le Ténéré, au Sud par l'Aïr (République du Niger) et l'Adrar des Iforas (République du Mali). Sur le plan administratif, le Hoggar comprend la wilaya de Tamanrasset, avec la ville de Tamanrasset pour chef lieu de wilaya. Il est subdivisé en 21 régions naturelles (**figure 4**) par les tribus qui y vivent (de Foucauld, 1952). Le Hoggar constitue le massif le plus élevé d'Algérie (le Mont Tahat culmine à 3003 mètres d'altitude dans l'Atakor). Le Hoggar est une région continentale, car elle est très éloignée des masses océaniques. Elle est située à environ 2000 Km de la côte méditerranéenne (Alger) et à 2500 Km de l'Océan Atlantique. Cependant cette continentalité est atténuée par l'orographie. Pour les phytogéographes (e.g. Quézel, 1965), le Hoggar fait partie intégrante de la subdivision du Sahara central qui comprend non seulement le massif central saharien et ses annexes (Hoggar et Tassilis), mais aussi les bas-pays environnants et le versant septentrional du massif du Tibesti (République du Tchad).

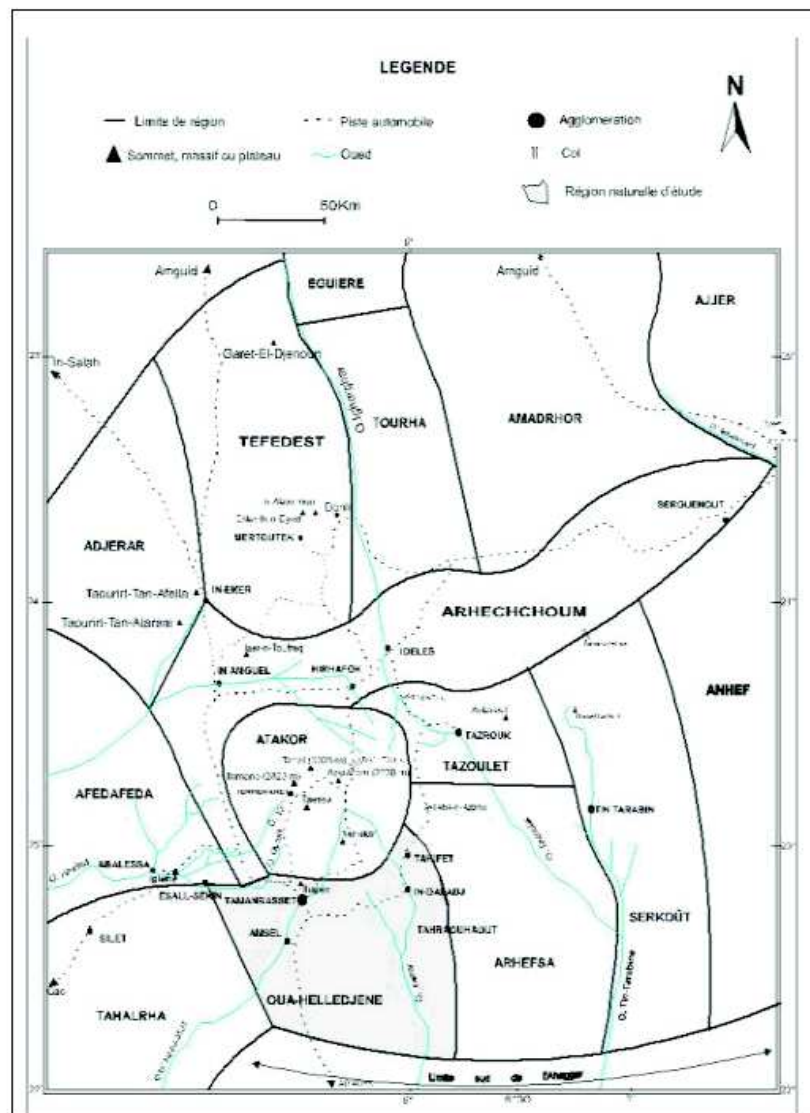


Figure 4. Carte montrant les subdivisions naturelles du Hoggar (de Foucauld, 1952).

## 1 - 2. Le relief

Le volcanisme a été particulièrement important vers la fin du Tertiaire et au Quaternaire, ayant pour zone principale l'Atakor (Furon, 1967). Il est à l'origine de la formation du massif de l'Atakor, avec les Monts Tahat (3003 m), Ilamane (2823 m), le plateau de l'Assekrem (2730 m) et des massifs du Tefedest et de Taghalgha. Les principales roches du Hoggar sont les schistes cristallins, les granites et les filons (Savornin, 1934 ; Furon, ca 1967 ; Verlet, 1974 ; Despois & Raynal, 1975 ; Blanguernon, 1976 ; Fabre, 1976). La géomorphologie actuelle du Hoggar est la conséquence d'une lente et longue érosion plutôt mécanique (Quézel, 1965; Monod, 1992). Cette érosion a donné naissance à d'énormes blocs granitiques arrondis, des vallées encaissées, à des barkhanes, des ergs et des regs (Le Houérou, 1986). Ces formes géomorphologiques ont une importance botanique spéciale car elles constituent, pour certaines d'entre elles (gorges et gueltas), des zones refuges pour la flore (Quézel, 1965).

## 1 - 3. L'hydrogéologie

---

Le Hoggar est pauvre en réserves hydrogéologiques (Dubost, 1992). Les sources en eau sont rares (Blanguernon, 1976). Les réserves en eau se résument essentiellement aux inféro-flux qui sont des écoulements souterrains contenus dans les zones d'élargissement des Oueds (Gribi *et al.*, 1992). Ces inféro-flux sont quasi-exclusivement alimentés par les crues.

Les écoulements des eaux dans le Hoggar sont soit linéaires, soit diffus et ont un caractère intermittent (Monod, 1992). Néanmoins, un réseau hydrographique assez dense et fossilisé (Monod, 1992) témoigne probablement d'un passé plus humide.

Les gueltas, ou Aguelmane en Tamahaq, sont des mares d'eau temporaires ou permanentes. Elles sont alimentées par les écoulements superficiels ou par des eaux souterraines (Monod, 1992). Signalons dans la région de Tamanrasset, les gueltas de Tamekerest et de In-Zebbib, pour ne citer que celles-ci. Ces gueltas jouent un rôle important dans le maintien d'une flore et d'une faune conséquentes et constituent des zones humides dans le plus vaste des déserts du monde.

## 2. Le Tassili

Le Tassili N'Ajjer est un plateau immense qui se situe à une altitude relativement élevée (1500 m) par rapport au reste du Sahara. Cette particularité, en plus de sa structure, font de lui un milieu unique au Sahara central et ailleurs. Le décret du 27 juillet 1972 lui donne le statut de parc national. En 1982, il fût incorporé en tant que patrimoine mondial de l'humanité par l'UNESCO et fût classé depuis 1986 comme une réserve de la biosphère par le programme MAB (man and biospher ; Kerzabi, 1995).

### 2 - 1. Situation géographique

---

D'une superficie de 80'000 km<sup>2</sup>, le Tassili est situé au Sud-Est de l'Algérie et constitue la plus grande partie de la Wilaya d'Illizi à l'exception de l'extrémité Nord-Ouest du Parc qui appartient à la Wilaya de Tamanrasset. La Wilaya d'Illizi est limitée au Nord-Ouest par la Wilaya de Ouargla ; à l'Ouest par la Wilaya de Tamanrasset ; à l'Est par les frontières libyennes et au Sud-Est par les frontières nigériennes (**figure 3**).

### 2 - 2. Le relief

---

Le plateau du Tassili constitue, en gros, une immense table qui domine au Sud la plaine cristalline par une falaise abrupte et s'abaisse peu à peu jusqu'à la bordure Nord. Ce plateau est formé d'éléments gréseux séparés par le sillon intra-Tassilien schisteux. Cette structure très simple dans son ensemble comporte de nombreuses variations de détail, les principales étant la haute plaine cristalline, le plateau du Tassili interne, le plateau du Tassili externe, la bordure septentrionale du pays post-Tassilien et le massif de l'Adrar N'Ajjer (Leredde, 1957).

### 2 - 3. La géologie

---

L'histoire géologique du Tassili est mouvementée et est marquée par des phénomènes majeurs qui ont façonné les roches et les paysages : orogénèse, basculements, érosions fluviales et éoliennes, glaciations, transgressions et régressions marines, sédimentations et volcanisme (Bousquet, 1987). La structure géologique d'un milieu détermine, en partie, les conditions d'accueil des biocénoses et est aussi à l'origine de la nature lithologique et par conséquent la nature pédologique. Le Tassili N'Ajjer est essentiellement constitué par l'un des morceaux de l'enceinte gréseuse qui entoure le très ancien bouclier saharien, dont la masse cristalline constitue le massif du Hoggar. Les différentes zones que l'on rencontre en allant du Sud au Nord sont par conséquent les terrains les plus anciens aux couches les plus récentes (Killian, 1922-23 in Leredde, 1957 ; Lelubre, 1952) : le massif cristallin, les Tassilis internes, le sillon inter-Tassilien, les Tassilis externes et le pays pré-Tassilien.

## 2 - 4. L'hydrogéologie

La connaissance de la structure géologique permet de mieux comprendre les problèmes liés à la circulation de l'eau dans le sol. En raison des intenses phénomènes érosifs, pluviaux et éoliens qu'il a subi, la majeure partie du Tassili est, actuellement, constituée de roches nues (grès ou basaltes). L'absence de sol sur ces roches imperméables ne permet pas aux eaux de pluie de s'infiltrer. Elles ruissellent donc sur de grandes distances pour arriver au niveau de zones d'épandage, constituées de sable, et s'infiltrent pour alimenter la nappe phréatique (Leredde, 1957). Les oueds les plus puissants se forment dans la moitié Est du Tassili. Peu d'oueds nés dans les Tassilis internes sont capables de franchir les barrières des Tassilis externes et la plupart d'entre eux se perdent dans les sillons intra-Tassiliens (Killian, 1922-23 in Leredde, 1957). Le réseau hydrographique est d'une densité importante qui n'est que temporairement, et sur de courtes distances, irrigué par les précipitations :

Les oueds : il n'y a que l'oued Imirhou qui coule à peu près régulièrement chaque année sur quelques kilomètres (Leredde, 1957) ;

Les gueltas : la présence de ces points d'eau, permanents ou non, appelés « gueltas », constitue une des originalités du Tassili. Elles participent à l'accueil d'espèces animales et végétales des biotopes humides et constituent donc un milieu original d'équilibre des milieux naturels sahariens.

Au Tassili, on reconnaît trois principaux types de sols : sableux, limono-sableux et argilo-limoneux (Leberre et Bouvet, 1985). Les sols sableux sont très pauvres tant en matière organique qu'en éléments minéraux assimilables. Toutefois, au niveau des zones périphériques, la végétation peut bénéficier d'une relative richesse hydrique, due au stockage latéral des eaux de ruissellement. Les deux autres sols sont relativement riches en matières organique et minérale assimilables et constituent d'ailleurs la plupart des sols des oueds.

## 3. Le climat

Le Sahara est le plus grand des déserts où les conditions climatiques atteignent leur plus grande âpreté. Les conditions désertiques sont apparues dès la fin du Miocène, vers 7 MA (Schuster et al., 2006). Elles sont dues d'abord à la situation en latitude, au niveau du tropique du Cancer, ce qui entraîne de fortes températures, et au régime des vents qui se traduit par des courants chauds et secs. La partie centrale du Sahara est privée de

précipitations du fait de son éloignement de la mer. La continentalité, en plus de la barrière montagneuse de l'Atlas au Nord qui condense les dernières traces d'humidité, provoque l'apparition brutale du désert (Le Houérou, 1990). A l'Ouest, c'est un courant marin froid qui longe les côtes de Mauritanie de sorte que les vents qui vont vers le continent se trouvent fortement réchauffés et le degré hygrométrique abaissé ; ce qui, en plus de la faible nébulosité, accentue les écarts thermiques journaliers, saisonniers et annuels au niveau de l'air et au niveau du sol. Le Sahara central, suivant les années est affecté tantôt par les conditions climatiques du Sahara septentrional (climat méditerranéen), avec des pluies liées aux dépressions soudano-sahariennes, tantôt par celles du Sahara méridional (climat tropical), avec des pluies estivales liées à la montée du front intertropical (Le Houérou, 1986, 1992).

Le climat revêt une importance majeure pour les êtres vivants en général et les végétaux en particulier dont il conditionne la germination, la croissance, le développement et l'organisation. Les montagnes du Sahara central, oasis au milieu du désert, sont des refuges à un certain nombre de taxons, car ils y trouvent l'humidité et les températures adéquates à leur survie, et sont donc des lieux privilégiés pour l'étude de l'histoire des flores sahariennes (Maley, 1980). La végétation est de ce fait, un bon indice climatique car elle est la résultante du climat et du sol (Ozenda, 1982), mais au Hoggar, le climat est plutôt prépondérant (Quézel, 1965). Pour Barry & Riser (1988), le Hoggar reflète avec rigueur les relations climat-végétation du fait de la forte corrélation entre la quantité de pluie annuelle et la distribution spatiale de la végétation. En outre, selon ces mêmes auteurs, un changement dans la physionomie de la végétation implique un changement d'étage bioclimatique. Au Tassili, où le relief est constitué par des plateaux rocheux avec des pouvoirs absorbants quasi-nuls et de dépressions où vont s'accumuler graviers et sables, deux zones peuvent être distinguées : 1) l'une à sécheresse et à aridité extrêmes avec une végétation rare, et 2) l'autre qui correspond à un lieu de concentration de l'eau où la végétation peut se développer. La pluviosité est très faible dans le Sahara central, d'une valeur de 20 à 50 mm par an (Le Houérou, 1990). La quantité et le régime pluviométriques sont extrêmement variables car, pour le Sahara central, la faiblesse des précipitations est aggravée par leur irrégularité. Le climat représente un des critères les plus importants dans la distribution géographique de la végétation saharienne. Pour illustrer les conditions climatiques du Hoggar et du Tassili, les paramètres météorologiques (température, pluviométrie et humidité relative) des stations météo de Tamanrasset et Djanet sont résumés respectivement dans le **tableau 1**.



			J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	année
Dubief (1926-1939)	Tamanrasset (Hoggar)	T (°C)	12,1	13,8	17,5	21,7	25,2	28,2	28,2	27,7	26,1	22,4	18,0	13,6	Moy. : 21,2
		P (mm)	3,5	0,9	0,8	2,6	6,4	5,8	2,9	11,9	10,0	2,2	1,8	2,2	Total : 51,0
	Djanet (Tassili)	T (°C)	12,6	15,1	19,6	24,3	28,7	31,4	31,0	30,6	28,7	24,8	19,5	14,1	Moy. : 23,4
		P (mm)	4,7	1,7	1,2	1,8	3,5	3,0	0,1	0,4	3,8	1,3	1,9	1,6	Total : 25,0
ONM (1987-2006)	Tamanrasset (Hoggar)	T (°C)	12,9	15,0	19,0	23,6	27,5	29,8	30,0	29,3	27,8	23,6	18	14,4	Moy. : 22,6
		HR (%)	24,3	21,7	19,7	16	16,1	17,5	17,2	21,3	22,2	24,1	25,1	26,1	Moy. : 20,9
		P (mm)	1,73	1,18	6,78	1,3	2,82	8,25	7,11	10,38	4,45	9,47	1,1	0,71	Total : 55,3
	Djanet (Tassili)	T (°C)	11,7	14,2	19,3	25,1	29,1	31,8	31,7	31,2	29,9	25,4	17,9	13,3	Moy. : 23,4
		HR (%)	37,7	29,9	23,9	19,1	18,1	17,3	16,2	18,9	21,1	27,5	31,2	35,9	Moy. : 24,7
		P (mm)	1,83	0,54	4,85	1,13	3,42	2,22	0,35	0,9	0,41	1,38	0,05	0,07	Total : 17,2

**Tableau 1** : Données météorologiques (moyennes mensuelles) des stations de Tamanrasset (région du Hoggar ; Altitude: 1362 m, Latitude: 22°47N, Longitude : 05°31E) et de Djanet (région du Tassili ; Altitude: 1054 m, Latitude: 24°55N, Longitude : 09°47E). T = Température ; P = Pluviométrie ; HR= Humidité relative. [Source : ONM (2007) & Dubief (1963)]

Il est à noter que dans le Hoggar, la pluviométrie augmente au delà de l'altitude de 1500 m, elle est à priori de l'ordre de 50 à 100 mm par an (Sahki, com. pers.).

## 4. Caractères généraux de la flore du Sahara

La végétation du Sahara est surtout confinée au niveau des habitats où les conditions topographiques sont favorables au maintien d'une vie végétale ; il s'agit principalement des dépressions, des lits d'oueds et à un degré moindre, des flancs de montagnes ou collines (djebels) et des régions dunaires (ergs). Ce type de distribution de la végétation a été défini par Monod (1954) comme étant un « mode contracté », par opposition au « mode diffus » des climats plus humides. Chaque habitat héberge un ou plusieurs groupements qui lui sont propres.

L'extrême rigueur du climat saharien, la faiblesse et l'irrégularité des pluies conjuguées à de fortes températures, permettent l'installation d'une végétation xérophytique. De plus, la spécificité biologique du Sahara, ainsi que l'existence de vastes étendues constituant des obstacles indéniables à la dissémination des plantes, font que la flore est très pauvre en nombre d'espèces et que l'endémisme est particulièrement développé atteignant la valeur remarquable d'environ 25% (Ozenda, 1983). Ce dernier auteur en 1983, avance le chiffre de 1200 espèces pour tout le Sahara. Cette flore est répartie en 104 familles d'angiospermes et 400 genres (Quézel, 1978). Les principales familles sont les Asteracées, Brassicacées, Fabacées, Poacées, Chénopodiacées et Caryophyllacées, qui représentent environ 40% de la flore saharienne.

Les espèces constituant les flores du Hoggar (Quézel, 1961, 1965 ; Ozenda, 1983) et du Tassili (Leredde, 1957 ; Barry *et al.*, 1976) sont de diverses origines biogéographiques et de composition systématique relativement variée (espèces cosmopolites et espèces

endémiques). Ainsi, aux espèces sahariennes proprement dites (éléments sahariens ou saharo-sindiens), s'ajoutent des espèces méditerranéennes et des espèces tropicales. Ozenda (1983), note la prédominance du groupe saharo-sindien, suivi par le groupe méditerranéen, puis le groupe tropical. Pour les auteurs Pons & Quézel (1957) et Maley (1980), la végétation du Hoggar, a un caractère méditerranéen assez marqué, car, pendant l'Holocène, il y'a eu une invasion du Hoggar et du Tibesti (Tchad) par des espèces méditerranéennes comme le cèdre de l'Atlas, les chênes et le pin d'Alep, divers *Ficus* et oliviers; voire des espèces tempérées comme l'aulne, le noyer, l'orme ou le bouleau. Cependant, pour Ballouche *et al.* (1995), la flore et la végétation Holocène du Hoggar diffèrent peu de celles actuelles. La flore actuelle est pauvre par rapport à l'étendue du Hoggar : Maire (1933) y distingue 350 espèces et Sahki (1999) cite plus de 300 arbres, arbustes et arbrisseaux, autochtones ou introduits. Ces espèces s'associent et forment, sous l'influence du climat, de la géomorphologie et des disponibilités hydriques, des groupements végétaux dont l'étude a été faite par plusieurs auteurs (Maire, 1933 ; Quézel, 1954, 1956, 1957, 1961, 1965 ; Barry & Celles, 1972-1973 ; Barry *et al.*, 1976 ; Barry & Riser, 1988; Abdelkrim, 1992 ; Halem, 1990 ; Boucheneb, 1999 ; Chenoune, 2005).

Au Tassili N'Ajjer, à titre d'exemple, le nombre total d'espèces recensées par Leredde (1957) est d'environ 410. Le taux d'endémisme aux Ajjers est très élevé, proche de 50%, comparé à l'ensemble du Sahara (25% ; Leredde, 1957). Bousquet (1987) et Benhouhou *et al.* (2003) ont donné une liste de quelques espèces endémiques ou remarquables du Tassili dont *Cupressus dupreziana*, *Myrtus nivellei*, *Olea europaea* subsp. *laperrinei*, *Lavandula antineae*, *Lupinus tassilicus*, *Helianthemum geniorum*, *Atractylis aristata* et *Nucularia perrini*

## III –Travaux entrepris sur *Olea europaea* subsp. *laperrinei*

Les travaux entrepris sont organisés en deux parties, la première (A) relate une étude générale de quelques aspects biologiques et la seconde (B) retrace l'apport de l'outil moléculaire dans l'étude des populations de l'olivier de Laperrine et de leurs stratégies de reproduction.

### PARTIE A - Etude générale de quelques aspects biologiques

Dans cette partie, nous montrerons l'essentiel de nos résultats de recherche entrepris sur l'étude générale des différents aspects biologiques que nous avons abordés sur le taxon (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*), à savoir une investigation sur sa biogéographie dans le Sahara central pour mieux connaître sa répartition géographique ainsi que le milieu dans lequel il est présent ; celle-ci est suivie par une étude écologique sommaire au niveau de son voisinage pour connaître les espèces d'arbres et arbustes associées à l'olivier de Laperrine. Par la suite, une étude comparée sur le plan botanique (architecture de l'arbre, morphologie des rameaux, inflorescences, fleurs, fruits, graines, pollen et histo-anatomie des organes : tiges, feuilles, racines, ...) avec un oléastre (Zebboudj) de la région d'Alger (*O. e. europaea*) a été effectuée pour définir les meilleurs critères de distinction des deux taxons. Nous terminons cette partie du travail par une petite étude sur la germination afin de connaître les possibilités de multiplication par semis de l'olivier de Laperrine.

#### 1 - Biogéographie

---

Nos recherches bibliographiques montrent que l'ensemble des anciens travaux (Maire, 1933 ; Leredde, 1957 ; Quézel, 1958 ; Benichou, 1962 ; Ozenda & Santa, 1990) donnent seulement une répartition géographique de l'olivier de Laperrine à l'échelle régionale dans le Sahara central comme il est indiqué dans la **figure 2**. Ceci est insuffisant quand on veut étudier une espèce qui est menacée d'extinction. Pour cela, la nécessité de regrouper le maximum de données avec suffisamment de précision sur sa biogéographie dans chaque région telles que la localisation des stations, leurs coordonnées géographiques (latitude, longitude, altitude), le nombre de pieds ou le type de relief, est impérative à toute étude de sauvegarde du taxon. Ainsi, dans cette partie, nous essayerons de faire le point pour dresser un bilan général sur l'inventaire de l'espèce à travers les stations que nous avons explorées au cours de nos différentes missions au Hoggar et au Tassili et les autres stations explorées par d'autres auteurs que nous avons complétées au préalable selon la disponibilité des informations. Enfin, nous comparerons nos résultats à ceux trouvés pour les populations d'olivier de Laperrine présentes au Soudan et au Niger.

Avant de détailler ce chapitre, il est important de donner quelques précisions générales sur les stations où ont été collectés les échantillons, telles que par exemples l'identification et la nomination des lieux et les problèmes liés à la recherche de la sous espèce au cours de ces différentes missions.

### **1 - 1. Problèmes de nominations des stations**

Les régions du Hoggar et du Tassili sont des domaines très vastes. Bien qu'il y'ait eu beaucoup d'explorateurs qui y sont passés avec la couverture des guides locaux, les références bibliographiques et les cartes topographiques sur ces régions restent très limitées. Le problème de l'identification des stations à olivier de Laperrine s'est donc posé. Notamment, une station peut avoir des noms et des orthographes différents : à titre d'exemples nous pouvons citer les cas d'Agellala et Adjellala ou de Tonget, Tandjet et Tonjet. Les guides peuvent ainsi donner deux noms différents de la même station. Il faut faire également attention sur les noms des lieux qui peuvent avoir le même nom : pour exemple le lieu-dit In-Tounin existe dans l'Attakor (lat. 22°47N, long. 5°41E, alt. 1530 m) et dans l'Abankor au Tefedest (lat. 24°52N, long. 5°23E, alt. 1800 m). Pour éviter ces confusions, nous suggérons qu'un travail de révision de la cartographie des stations à oliviers soit fait sur la base des coordonnées issues par GPS relevées au cours des sorties sur le terrain.

### **1 - 2. Définition d'une station**

Un autre problème auquel nous avons été confronté est la définition d'une station par rapport à certains facteurs tels que, par exemple, sa superficie, la distance qui la sépare d'une autre station et le nombre de pieds qui la compose. Au cours de nos missions, nous avons trouvé des stations représentées par un seul échantillon, tantôt par des petits groupes de 5 à 8 pieds séparés entre-eux de 100 à 300 m et voire plus. Pour les différentes parties d'étude de notre travail, nous avons défini une station comme la localité qui est composée d'au moins un pied d'olivier de Laperrine et qu'elle soit distante d'une autre station d'au moins 500 m.

### **1 - 3. Résultats**

Au cours de nos différentes missions effectuées depuis 1996, nous avons relevés 21 stations à olivier de Laperrine : 20 dans le Hoggar et une au Tassili (**tableau 2**). Les 40 autres stations explorées par d'autres missionnaires et que nous avons complétées selon la disponibilité des informations sont consignées dans le **tableau 3**.

Dates des missions	Noms des stations	Coordonnées géog.		Alt. (m)	Nombre de pieds	Position sur la carte*	
		Latitude	Longitude				
<b>HOGGAR</b>							
26/03/1996	Tin Hamor	22°50N	5°37E	1900	+ 100	D3-Tamanrasset	
	Tizoûadj	23°15N	5°42E	2200	+ 100	D1-Assekrem1	
	Imouren	23°14N	5°28E	2300	+ 10	B3-Assekrem1	
	Afilal	23°09N	5°44E	2050	5	E4-Assekrem1	
30/05/2000	Oued Inerjiouène	23°50N	6°00E	1450	7	C1-Assekrem2	
10/05/2001	Oued Ertouïl	22°50N	5°21E	1400	3	A3-Tamanrasset	
01/06/2004	Adjeïlla	22°38N	5°37E	1530	+ 16	C5-Tamanrasset	
	In-Toumin	22°45N	5°38E	1390	+ 100	D4-Tamanrasset	
	Tahâssa	22°47N	5°39E	1476	20	D3-Tamanrasset	
	In-Ezzebîb	22°48N	5°37E	1470	30	C3-Tamanrasset	
	Hadriane	22°47N	5°35E	1600	+ 50	C3-Tamanrasset	
	Oulet (Issékram)	22°54N	5°35E	1605	30	C2-Tamanrasset	
	Hermanene	22°55N	5°31E	1525	12	B2-Tamanrasset	
	Tin-Aleo	23°05N	6°05E	1581	10	A3-Tazrouk	
	Tonget	23°07N	5°59E	1600	3	C5-Assekrem3	
	03/05/2007	Edîkel (Taessa)	23°05N	5°31E	1710	+ 80	C5-Assekrem2
		Akerakar (plateau)	23°04N	5°43E	1900	+ 80	D6-Assekrem1
04/08/2007	Akerakar (massif)	23°02N	5°42E	1875	+ 20	D6-Assekrem1	
	Ahoumahant	22°56N	5°41E	1870	15	D1-Tamanrasset	
<b>TASSILI</b>							
30/04/2005	Tamrit	24°37N	9°35E	1710	+ 60	B1-Djanet	

**Tableau 2** : Données sur les stations d'olivier de *Laperrine* observées durant nos missions au Hoggar et Tassili

(\*) : Voir en annexe 1

**Etude des populations d'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*) du Sahara central algérien (Hoggar et Tassili)**

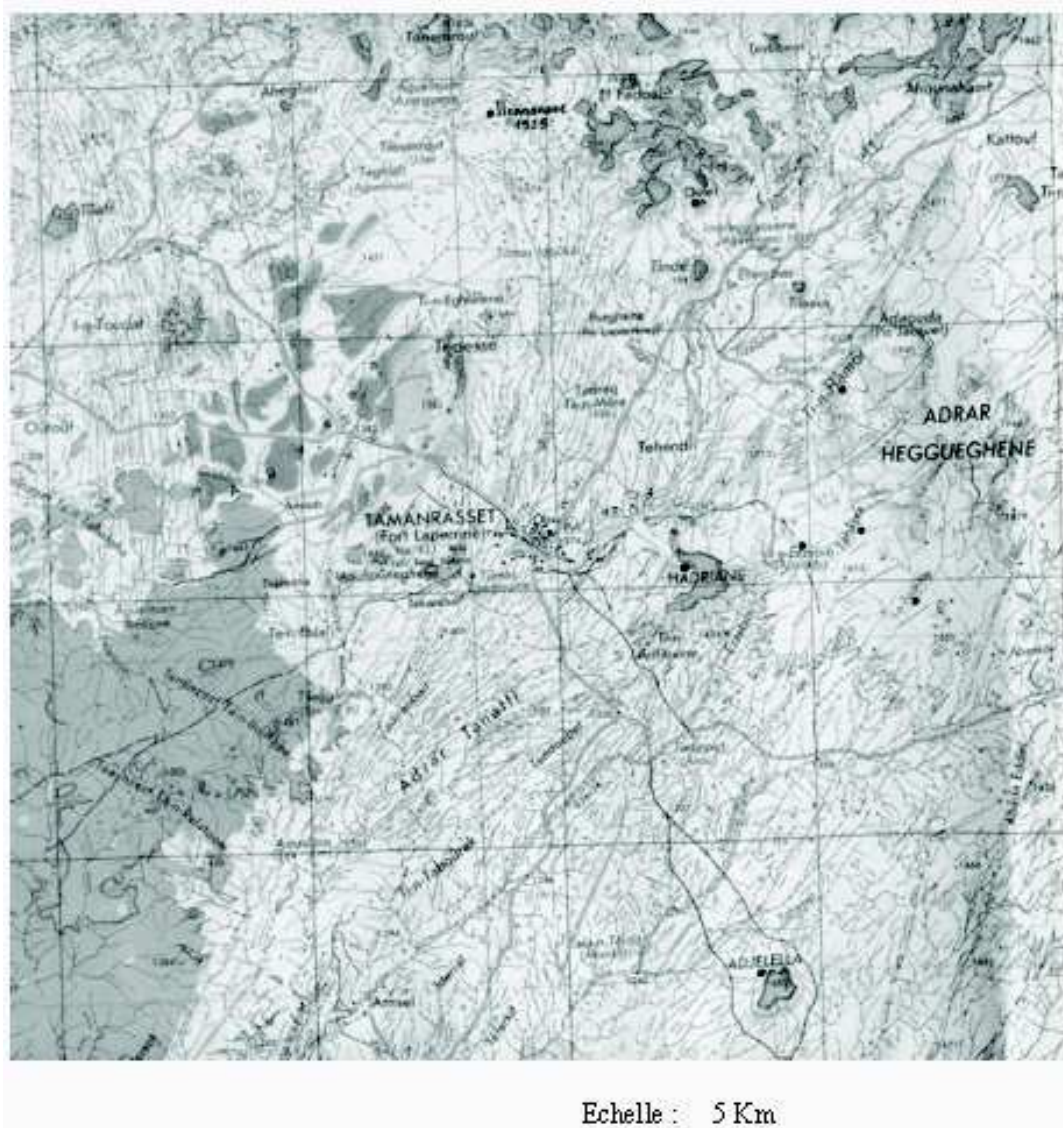
Auteurs	Noms des stations	Coordonnées géog.		Alt (m)	Nombre de pieds	Position sur la carte*
		Latitude	Longitude			
<b>HOGGAR</b>						
Maire (1933)	Oued Temmes - Lemzent	23°21N	5°23E	1700	nr <sup>b</sup>	A3-Assekrem1
	Mont Amezzeroui	23°12N	5°37E	2550	nr	C4-Assekrem1
	Tigendaoui	23°06N	5°37E	2000	nr	C4-Assekrem1
	Oued Namane	23°13N	5°28E	2000	nr	B4-Assekrem1
	Ideles	23°49N	5°56E	1500	nr	B1-Assekrem2
	Tezet	23°47N	5°58E	1650	nr	C1-Assekrem2
	Tin Axel	23°27N	6°05E	2100	nr	B1-Tamrouk
	Teki-Ehtekert	23°31N	6°03E	2050	nr	A1-Tamrouk
	Assekrem	23°16N	5°37E	2700	nr	D3-Assekrem1
	Imarera	23°25N	5°45E	1920	nr	E1-Assekrem1
	Oued Tarouda	23°18N	5°54E	2100	nr	B3-Assekrem3
	Oued Aouari	23°21N	6°01E	2050	nr	A2-Tamrouk
	Oued Aliouen (Atakor)	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	1750	nr	- <sup>c</sup>
	Plateau de Tighaghart (Atakor)	23°04N	5°39E	1950	nr	D5-Assekrem1
Rocher du Mt. Sengat (Atakor)	23°17N	5°33E	2450	nr	C3-Assekrem1	
Quézel (1965)	Oued Tessekint (Atakor)	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	2100	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>
	Oued Tebarbert	23°25N	6°11E	2040	nr	B1-Tamrouk
	Tidjamayéne (Atakor)	23°15N	5°42E	2600	nr	D3-Assekrem1
	Oul (Atakor)	23°13N	5°40E	2400	nr	D3-Assekrem1
	Assekrem (Atakor)	23°16N	5°37E	2650	nr	D3-Assekrem1
	Imadouzène (Atakor)	23°18N	5°42E	2500	nr	D3-Assekrem1
	Oued In Tékadène (Atakor)	23°21N	5°44E	2350	nr	E2-Assekrem1
	Oued Akor (Tefedest)	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	2100	nr	- <sup>c</sup>
	Escamaïed (Tefedest)	24°20N	5°35E	2200	nr	C1-IN-Iker
	In-Acoulmou (Tefedest)	24°22N	5°36E	2250	nr	C1-IN-Iker
	Oued Mertoutak (Tefedest)	24°14N	5°33E	1750	nr	B2-IN-Iker
	Guelta Talmesta (Taessa)	23°07N	5°33E	2500	nr	C5-Assekrem1
	Oued Torak (Taessa)	23°04N	5°36E	2000	nr	C6-Assekrem1
	Oued Ouhaggar	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	2150	nr	- <sup>c</sup>
Oued Tamada	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	1650	nr	- <sup>c</sup>	
Berichou (1962)	Ravin de Tin Hamour	22°50N	5°37E	1900	nr	D2-Tamanrasset
	In-Acoulmou (Tefedest)	24°22N	5°36E	2200	nr	C1-IN-Iker
	Assekrem (Atakor)	23°16N	5°37E	2700	nr	D3-Assekrem1
	Adrar Amezzeroui	23°12N	5°37E	2550	nr	C4-Assekrem1
	Tiguandoui (Atakor)	23°06N	5°37E	2000	nr	C4-Assekrem1
Abdelkrim (com. pers.)	Tinhinkamen	23°50N	5°50E	1655	4	A1-Assekrem2
	Oued Akiou (Taessa)	23°11N	5°32 E	1740	20	B5-Assekrem1
<b>TASSILI</b>						
Kerzabi (1995)	Plateau Didier	25°30N	8°05E	1700	nr	- <sup>c</sup>
ONP Tassili (2004)	Jabbâren (Akba-Aroum)	24°28N	9°43E	1800	10	C3-Djanet
Sahraoui (com. pers.)	Oued Ikarren à Ikuir	25°42N	8°40E	1750	+5	- <sup>c</sup>

\* Stations citées dans les missions et non retrouvées sur les cartes ; nr : non reporté ; -<sup>c</sup> : cartes non disponibles.

**Tableau 3** : Les stations d'olivier de Laperrine dans le Hoggar et le Tassili selon d'autres auteurs

(\*) : Voir en annexe 1

Toutes ces stations explorées peuvent être situées aisément dans les cartes topographiques des figures de l'**annexe 1** (Biogéographie). Pour localiser par exemple la station de Tin Hamour (D3-Tamanrasset, ), dans le **tableau 2**, il faut aller à la carte de la **figure 5** et la retrouver dans le carré formé par les côtés D-3.



**Figure 5.** Carte de la région de Tamanrasset (Hoggar) indiquant les stations d'olivier de Laperrine (▲)

#### 1 - 4. Discussions

Dans le Hoggar, nous avons prospecté 20 stations d'olivier de Laperrine couvrant une superficie d'environ 3500 km<sup>2</sup>. On remarque que la quasi totalité de ces stations accuse un nombre de pieds généralement limité, parfois inférieur à 5. Ce sont des stations exposées aux différentes actions de dégradations (homme et animaux) qui se trouvent dans les plateaux et lits d'Oueds (e.g. Oued Ettoûl, Oued Inerjiouène ...). Par contre les stations isolées et localisées dans des endroits inaccessibles peuvent contenir une centaine de pieds (e.g. Tin Hamor, Tizioûadj, In-Tounin...). Dans la seule station de Tamrit du Tassili où nous avons exploré une aire de seulement 9 km<sup>2</sup>, nous avons recensé un nombre surprenant de 60 pieds, qui est encore revu à la hausse (**tableau 2**). Tous les auteurs qui connaissent la région (Maire, 1933 ; Leredde, 1954 ; Benichou, 1962 ; Quézel, 1965 ; Ozenda & Santa, 1990) signalent que dans le Tassili, l'olivier de Laperrine est moins fréquent que dans le

Hoggar. De nos observations, il ressort qu'il y a donc une nécessité de revoir les anciens relevés et que le meilleur moyen de connaître le nombre exact d'individus dans chaque station est d'effectuer davantage de sorties sur le terrain. Selon A. Sahki (com. pers.), chercheur de l'INRF au Hoggar qui a eu l'occasion de faire plusieurs missions d'exploration, il y aurait plusieurs milliers de pieds d'olivier de Laperrine dans le Hoggar. A titre d'exemple, il donne pour l'Adrar Hegueguène le chiffre de mille pieds. Nos observations personnelles (plus de 700 pieds observés dans le Hoggar) confirment au moins ce fait. Toutefois, il est difficile d'estimer précisément le nombre de pieds présents dans le Hoggar et le Tassili car il existe peu de données chiffrées dans la littérature (**tableau 3**). De plus, il n'est pas toujours facile de compter tous les arbres présents du fait que les falaises sont difficiles d'accès. On peut donc supposer que le nombre de pieds est généralement sous estimé.

Par ailleurs, nous n'avons pas encore exploré le massif du Mouyedir. Une mission est prévue ultérieurement. Tous les auteurs signalent que la présence du taxon y est rare (Maire, 1933 ; Benichou, 1962 ; Abdelkrim, com. pers.).

Au Niger, l'olivier de Laperrine se trouve dans l'Aïr (Brunneau de Miré & Gillet, 1956). Selon des données très récentes, il est présent sur au moins quatre massifs (et plus probablement cinq) : le Greboun, le Tamgak, les Bagzane, le petit massif de l'Egalah et celui du Taghmert pour lequel une confirmation est encore nécessaire (Anthelme *et al.*, 2008). On trouve des effectifs importants seulement dans le massif des Bagzane (environ 2000 pieds). Dans les autres massifs, les effectifs ne dépasseraient guère 50 arbres. Enfin, au Soudan, ce taxon est en abondance au Djebel Marra et au Gourageil dans la région du Darfour, car les précipitations sont relativement élevées avoisinant les 800 mm par an (Wickens, 1976). Au Tibesti (Tchad), l'olivier de Laperrine est absent. D'après Quézel (1958), il n'aurait pas pu échapper aux botanistes spécialistes qui ont visité ce massif. Cependant, Maley (1980) cite que dans le Tibesti au Nord du Tchad (région de Beurkia), des sédiments situés entre 20'000 et 22'000 B.P. trouvés par Servant (1973) contenaient du pollen du genre *Olea* comparable à celui de l'olivier de Laperrine actuel. Le taxon aurait donc disparu de ce massif relativement récemment.

Basé sur l'ensemble des observations, on remarque que la distribution de l'olivier de Laperrine est extrêmement fragmentée. Outre le fait que ce taxon soit présent dans des grands massifs montagneux très isolés les uns des autres (Hoggar, Tassili, Aïr et Djebel Marra), la répartition des arbres au sein même de ces grands massifs est également très dispersée en patches de quelques individus. L'impact de ce type de répartition sur l'organisation de la diversité génétique inter- et intra-massif devrait être étudié afin de mieux évaluer la dynamique des flux de gènes (passés et éventuellement futurs) et la menace d'une érosion génétique pouvant mener à l'extinction du taxon à plus ou moins long terme (Sork *et al.*, 2002). Ceci permettrait en outre de définir des stratégies de conservation du taxon.

## **2. Ecologie**

---

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés exclusivement aux espèces d'arbres et arbustes qui évoluent au voisinage immédiat (rayon de 5 à 20 m) de l'olivier de Laperrine dans les stations que nous avons explorées (falaise, ravin, Oued etc.) au cours des différentes missions effectuées dans le Hoggar et le Tassili afin de discuter en particulier des types de liens associatifs.

### **2 – 1. Résultats**



L'olivier de Laperrine se trouve en regroupement avec les différentes espèces d'arbres et arbustives réunies dans le **tableau 4**.

Noms des stations	Coordonnées géographiques		Alt. (m)	Espèces
<b>HOGGAR</b>				
Oued Ilamane	23°13N	5°28E	2000	<i>Rhus tripartitum</i> , <i>Acacia ehrenbergiana</i> , <i>Pistacia atlantica</i>
Tin Hamor	22°50N	5°37E	1900	<i>Ficus salicifolia</i> , <i>Rhus tripartitum</i> , <i>Acacia ehrenbergiana</i> , <i>Nerium oleander</i>
Tizoûadj	23°15N	5°40E	2700	<i>Rhus tripartitum</i> , <i>Acacia ehrenbergiana</i>
Oued Ettoûl	22°05N	5°21E	1400	<i>Rhus tripartitum</i> , <i>Acacia ehrenbergiana</i> , <i>Maerua crassifolia</i>
Adjelella	22°38N	5°37E	1530	<i>Rhus tripartitum</i>
In-Tourin	22°45N	5°38E	1390	<i>Ficus salicifolia</i> , <i>Rhus tripartitum</i> , <i>Acacia ehrenbergiana</i>
In-Ezzebib	22°48N	5°37E	1470	<i>Rhus tripartitum</i> , <i>Acacia ehrenbergiana</i> , <i>Myrtus nivellei</i> , <i>Nerium oleander</i>
Tonget	23°07N	5°59E	1600	<i>Acacia ehrenbergiana</i>
Tin Aleo	23°05N	6°05E	1581	<i>Acacia ehrenbergiana</i>
Iskrem	22°55N	5°35E	1605	<i>Maerua crassifolia</i>
<b>TASSILI</b>				
Tamrit	24°37	9°35	1710	<i>Rhus tripartitum</i> , <i>Acacia raddiana</i> , <i>Myrtus nivellei</i> , <i>Nerium oleander</i> , <i>Ziziphus lotus</i> , <i>Cupressus dupreziana</i>

**Tableau 4** : Relevés des espèces végétales (phanérophytes) évoluant au voisinage de l'olivier de Laperrine dans les stations du Hoggar et du Tassili

## 2 - 2. Discussions

Dans le Hoggar et le Tassili, on observe la même combinaison floristique, constatation faite également par Leredde (1957). Ce sont les espèces telles que *Rhus tripartitum* et *Acacia ehrenbergiana* qui se répètent le plus dans cette combinaison. Une association étroite, qui d'ailleurs était répertoriée par Quézel (1965), mérite d'être évoquée : C'est celle de l'olivier de Laperrine avec le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*, Anacardiaceae ; **fig. 6**) repérée au Hoggar (aux alentours de la station du Oued Ilamane). Cette association a son homologue à 2000 km dans le maquis au Nord de l'Algérie (région méditerranéenne). Elle est constituée par *O. e. europaea* et le lentisque (*Pistacia lentiscus*, Anacardiaceae ; **fig. 7**), il s'agit sans doute d'une association vicariante. Entre ces deux régions (Hoggar

et Nord Algérie) particulièrement, dans les Dayas<sup>2</sup> aux alentours de Laghouat (à 400 km au Sud d'Alger et à 1500 km au Nord du Hoggar et le Tassili), on relève l'existence d'une autre association également intéressante représentée par les espèces *Pistacia atlantica* et *Ziziphus lotus* (Rhamnacées) qu'on retrouve dans le Hoggar et le Tassili en combinaison avec *O. e. laperrinei*.

Ces espèces répertoriées avec *O. e. laperrinei* (**tableau 4**) du Sahara central (Hoggar et Tassili), qui est considéré comme un taxon appartenant à la végétation des lits d'Oueds des hautes montagnes du Sahara central, sont des éléments méditerranéens faisant partie des associations végétales vestiges des périodes humides du Quaternaire et actuellement en voie de disparition (Quézel, 1965). Ozenda (1958) considère que ces espèces sont de souche méditerranéenne et non de biologie méditerranéenne, car le climat régnant dans leur biotope n'est pas le même. Maire (1933) les appelait végétation orophile de l'étage saharo-méditerranéen.

De ce fait, on constate que le caractère méditerranéen ressort toujours et ceci laisse penser que ces associations qualifient bien la relation étroite entre les sous-espèces *laperrinei* et *europaea* du complexe *Olea europaea*. Besnard *et al.* (2002b ; 2007c), à travers les marqueurs moléculaires de l'ADN chloroplastique, a d'ailleurs montré que *O. e. laperrinei* du Hoggar et *O. e. europaea* de l'Est méditerranéen sont phylogénétiquement très apparentés.

Anthelme *et al.* (2008) trouvent au Niger dans les massifs de Bagzane et Tamgak, que les espèces arborescentes les plus importantes en association avec *O. e. laperrinei* sont des taxons généralement présents entre 1400 et 1900 m d'altitude. En l'occurrence, ces espèces sont *Rhus tripartitum*, *Acacia ehrenbergiana* et *Acacia raddiana*. Au Hoggar et au Tassili, l'olivier de Laperrine est rarement associé à *Acacia raddiana*, car la distribution altitudinale de cette dernière espèce ne dépasse jamais les 1400 m tandis que l'olivier de Laperrine évolue généralement au-delà.



---

<sup>2</sup> Daya : Dépression entourée de montagnes retenant les eaux d'infiltration.

**Figure 6.** Association à olivier de Laperrine (*O. e. laperrinei*) et pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) dans le Hoggar



**Figure 7.** Association à oléastre (Zebboudj ; *O. e. europaea*) et pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*) dans la région d'Alger.

### 3. Caractères botaniques généraux

---

L'usage des caractères botaniques, à l'échelle de l'arbre (aspect général), de l'organe (e.g. forme, taille des feuilles, fruits, fleurs, graines) et à l'échelle de la cellule (e.g. histologie, anatomie) est utilisé depuis fort longtemps et jusqu'à nos jours pour caractériser les espèces du genre *Olea* (e.g. Linné, 1734 ; de Candolle, 1844 ; Coutance, 1877 ; Johnson, 1957 ; Ciferri, 1945 ; Benichou, 1962 ; Altamura *et al.*, 1982 ; Médail *et al.*, 2001 ; Green, 2002 ) et pour l'identification des variétés (e.g. Ruby, 1917 ; Hauville, 1953 ; Ortéga, 1963 ; Cantini *et al.*, 1999 ; Idrissi & Ouazzani, 2003). Avant que les marqueurs moléculaires ne tranchent sur les origines de l'olivier de Laperrine, les descripteurs botaniques ont montré avec la quasi certitude que ce taxon devrait être considéré comme une espèce à part entière ou comme sous-espèce (Battandier & Trabut, 1911 ; Maire, 1933 ; Quézel, 1954 ; Benichou, 1962 ; Green, 2002). Pour soutenir cette idée, nous présentons des observations que nous avons faites à l'issue de nos différentes missions au Hoggar et au Tassili sur plusieurs caractères botaniques de l'olivier de Laperrine. Nos données étaient systématiquement comparées à celles obtenues sur l'olivier de l'Algérois (*O. europaea* subsp. *europaea*), le Zebboudj (oléastre) de Gué de Constantine (Semmar) dans la banlieue d'Alger.

#### 3 - 1. Architecture de l'arbre

L'Architecture d'un arbre est habituellement caractérisée par un certains nombres de facteurs tels que le mode de croissance des axes et leur différenciation, le type de ramification, la position des fleurs dans les tiges etc. Elle est utilisée par exemple dans les études de sylviculture (en aménagement des forêts, la détermination de la qualité du bois,

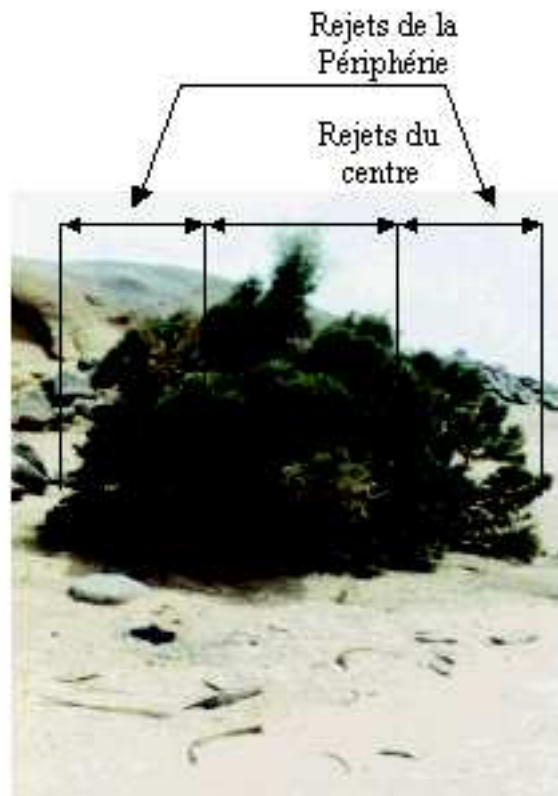
le calcul de son volume etc), ou en morphogénèse (pour connaître le type de croissance, la forme, le port des végétaux etc).

### 3 - 1 - 1. Méthodologie

Vu les difficultés d'accès aux différentes parties d'un pied, notre méthodologie est basée sur des observations directes des échantillons. Les pieds d'olivier de Laperrine des stations prospectées sont photographiés pour montrer leur aspect extérieur global (taille, forme et nombre de rejets). Les mesures effectuées au niveau de chaque pied (hauteur, longueur du fût, diamètre du tronc etc.) sont relevées à l'aide d'un ruban mètre.

### 3 - 1 - 2. Résultats

Nos observations sur les populations de toutes les stations (Hoggar et Tassili) montrent d'une façon générale que l'arbre a un aspect buissonnant composé de plusieurs rejets (3 à 6 en moyenne) ; (**fig. 8 et fig. 9**), ressemblant à la variété d'olivier « Chetoui » (**fig. 10**) sans tronc, du Sud de la Tunisie (Loussert & Brousse, 1978). Il est rare de trouver un pied franc comme le cas des oléastres de l'Algérois (**fig. 11**). Les rejets du centre du buisson se portent mieux, leur feuillage est exubérant, et les rameaux sont vigoureux. Par contre, ceux de la périphérie ont de très petites feuilles et leurs rameaux sont très courts (**fig. 8**). Lorsque les conditions environnementales sont favorables, le buisson fleurit et fructifie (surtout les rejets du centre). C'est le cas des stations se trouvant dans les falaises et ravins des montagnes inaccessibles et ainsi protégés de la dégradation due à la sécheresse du milieu, le broutement des animaux et surtout les activités humaines (**fig. 12 et fig. 13**). Par contre, quand cette dégradation est plus prononcée, les buissons sont rabougris. C'est le cas également des stations se trouvant dans les lits d'oued qui sont beaucoup plus accessibles (**fig. 14**). Il faut encore signaler l'existence de cas extrêmes (quand la sécheresse est plus dure) pour lesquels les buissons sont très chétifs et sont en boule. On les trouve dans les stations se trouvant à la périphérie des massifs montagneux qui sont plus exposés à la sécheresse du désert environnant (**fig. 15**). Enfin, on peut trouver tous les comportements intermédiaires de buissons façonnés par les conditions du milieu.

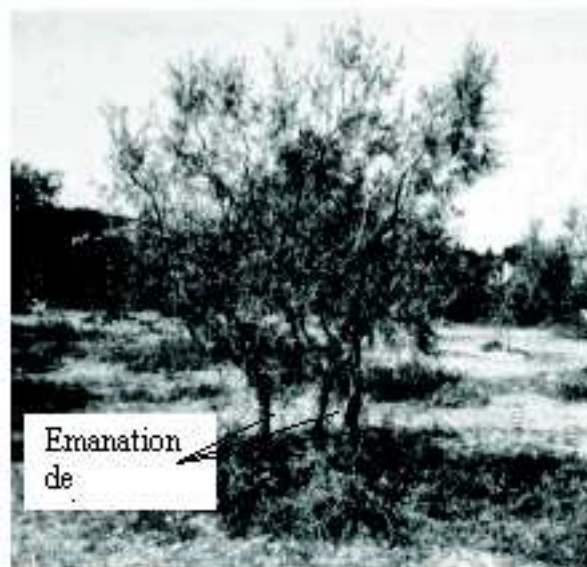


**Figure 8.** Aspect buissonnant de l'arbre d'*O. e. laperrinei* dans la station du plateau Akerkar (Hoggar)



**Emanation de rejets**

**Figure 9.** Pieds d'*O. e. laperrinei* montrant l'émanation de rejets constituant l'aspect buissonnant, (station de Hadriane au Hoggar)



**Figure 10.** Olivier du Sud de Tunisie (*O. e. europaea*) de la variété 'Chetoui' (photo : Amouretti et Comet, 1985).



**Figure 11.** Un pied franc de Zebboudj, oléastre de l'Algérois (*O. e. europaea*), exploité par l'homme



**Figure 12.** Des Oliviers de Laperrine en bon état dans une falaise de la station de In-Tounin dans le Hoggar



**Figure 13.** Des pieds de *O. e. laperrinei* dans une falaise de la station de In-Ezzebib au Hoggar (vue générale)



**Figure 14.** Un pied d'olivier de Laperrine dans la station du plateau d'Akerkar (Hoggar)





**Figure 15.** Des pieds d'*O. e. laperrinei* très rabougris dans une falaise de la station de In-Lannen (Hoggar)

Les mesures sur la taille des rejets (Hr = Hauteur du rejet, Ct = Circonférence du tronc, Ht = Hauteur du tronc) d'olivier de Laperrine ont été relevées selon le modèle représenté en **figure 16**. Au cours de nos différentes expéditions au Hoggar et au Tassili, nos observations ont montré l'existence de deux types de buisson selon qu'ils étaient protégés ou dégradés. Pour chacun de ces deux précédents états, nous avons considérés 10 buissons jugés les plus représentatifs. De même, pour chaque mesure, les rejets de la périphérie et du centre étaient étudiés séparément. Les différentes mesures moyennes effectuées au niveau des buissons sont regroupées dans le **tableau 5**.

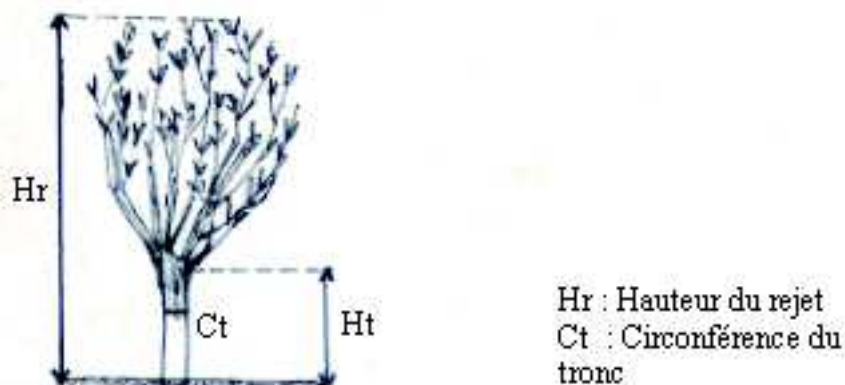
Buissons protégés						Buissons dégradés					
Rejets de la périphérie			Rejets du centre			Rejets de la périphérie			Rejets du centre		
Hr	Ct	Ht	Hr	Ct	Ht	Hr	Ct	Ht	Hr	Ct	Ht
3,0 ± 0,5	0,2 ± 0,05	-	7,0 ± 1,0	0,4 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,2 ± 0,05	-	4,0 ± 0,5	0,3 ± 0,05	0,5 ± 0,1

**Tableau 5 :** Mesures moyennes (m) représentatives de la taille des buissons (Hr = Hauteur du rejet, Ct = Circonférence du tronc, Ht = Hauteur du tronc) d'individus d'olivier de Laperrine du Hoggar et du Tassili (nombre de buissons = 10)

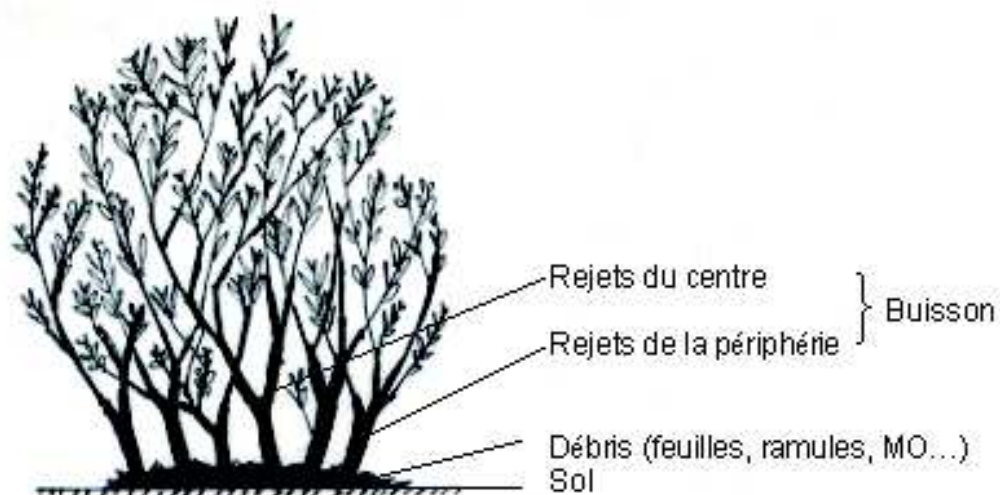
### 3 - 1 - 3. Discussions

En définitive, contrairement à ce que l'on peut trouver dans la littérature, l'olivier de Laperrine a généralement une architecture typique en buisson avec de multiples rejets (**fig. 17**). Il n'est jamais comme un arbre franc (**fig. 18**). Cette architecture a été également décrite par

Anthelme *et al.* (2008) pour l'olivier de Laperrine présent dans les massifs du Niger. On la rencontre également dans les formes sauvages de l'olivier méditerranéen (oléastre). Selon Anthelme *et al.* (2008), elle serait en grande partie associée à des effets anthropiques et en particulier le broutement par le bétail mais aussi l'exploitation du bois par l'homme. Les divers aspects que l'on vient d'énumérer sont représentés par le schéma (fig. 17) que l'on peut adopter comme modèle architectural pour représenter l'aspect définitif de l'arbre.



**Figure 16.** Schéma montrant l'aspect buissonnant de l'olivier de Laperrine du Hoggar et du Tassili



**Figure 17.** Schéma montrant l'aspect « pied franc » de l'oléastre de l'Algérois (Zebboudj), *O. e. europaea*



**Figure 18.** Schéma montrant l'origine des mesures faites sur un rejet d'*O. e. laperrinei*

### 3 - 2. Etude morphologique et histo-anatomie

Il serait fastidieux d'étudier les caractères morphologique et histo-anatomique au niveau des pieds de l'olivier de Laperrine de toutes les stations explorées au cours de nos différentes missions sur le terrain au Hoggar et au Tassili (700 pieds en 10 ans). Puisque tous ces pieds sont semblables, nous avons estimé donc judicieux de prendre uniquement la station de Tonget (Hoggar) comme la station de référence d'olivier de Laperrine pour nos différentes études comparatives avec l'oléastre de l'Algérois (Zebboudj) de Gué de Constantine (Semmar).

#### 3 - 2 - 1. Etudes morphologiques

Elles sont représentées par l'étude des appareils végétatif et reproducteur et par l'examen du pollen.

##### 3 - 2 - 1 - 1. Appareils végétatif et reproducteur

###### a. Méthodologie

Les méthodes d'étude utilisées sont soit des observations directes à l'œil nu, suivi par des prises de photos de l'organe du végétal (rameaux, feuilles, inflorescences, fruits, fleurs etc.), soit des observations après dissection sous une loupe binoculaire pour déterminer la structuration des organes (établissement du diagramme floral, de la formule florale, etc.). Les résultats sont présentés sous forme de tableaux et de figures.

###### b. Résultats

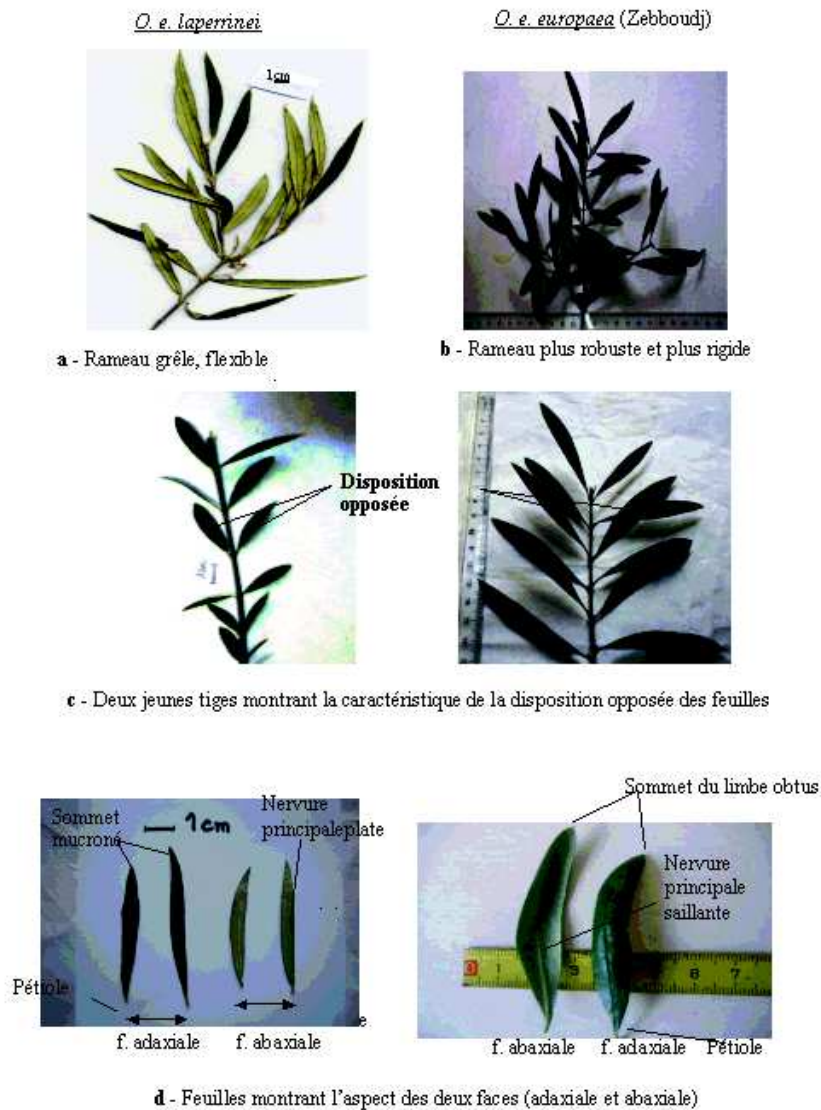
Les caractères de l'appareil végétatif sont représentés par les rameaux et les feuilles (**tableau 6 ; fig. 19 et fig. 20**) et ceux de l'appareil reproducteur par les inflorescences, les fleurs et les fruits (**tableau 7 ; fig. 21 et fig. 22**). Pour pouvoir comparer nos résultats, nous avons répertorié dans le **tableau 8** les mesures de caractères morphologiques reportées par d'autres auteurs.

**Etude des populations d'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*) du Sahara central algérien (Hoggar et Tassili)**

Taxon	Rameau :	Feuille :							
		Caractères Généraux	forme	Couleur		Nervure centrale	Taille (cm)		
				Face adaxiale	Face abaxiale		Longueur	Largeur	Longueur pétiole
<i>O. e. laperrinei</i> (protégé)	Grièvement flexibles, peu duriss et sétules		Etoile linéaire	Verte	Argentée	Plate	4-6	0,5-0,7	0,2-0,5
<i>O. e. laperrinei</i> (dégradé)	Rigides, épineux, très étoiles, coriaces, peu duriss et sétules	Entières, terminées en mucron ou obtuses sans stipules, glabres, persistantes et disposées en opposition opposées dans le rameau	Ovale	Verte foncée	Argentée	Plate	1-2	0,3-0,5	0,1-0,3
<i>O. e. europaea</i> (protégé)	Ses portait et plus robustes, très duriss et sétules		Oblique	Verte	Argentée	Calliate	5-8	1-1,4	0,3-0,6

(\*) : Mesures moyennes faites sur 10 échantillons.

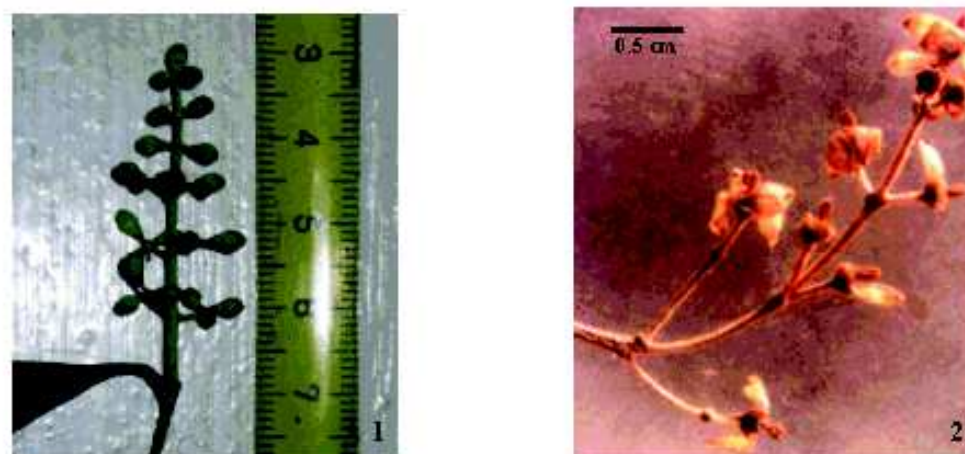
**Tableau 6 (\*)** : Comparaison des caractères morphologiques végétatifs (rameaux et feuilles) entre *O. e. laperrinei* (protégé et dégradé) du Hoggar et *O. e. europaea* (protégé), oléastre de l'Algérois.



**Figure 19.** Détails de quelques caractères morphologiques (rameau, feuilles, tiges...) de l'olivier de Laperrine (à droite) et du Zebboudj, oléastre de l'Algérois (à gauche)



**a** - Morphologie des inflorescences sur des jeunes rameaux :  
 - robustes et développées chez *O. e. europaea*, Zebboudj de l'Algérois (1)  
 - moins robustes et moins développées chez *O. e. laperrinei* (2)



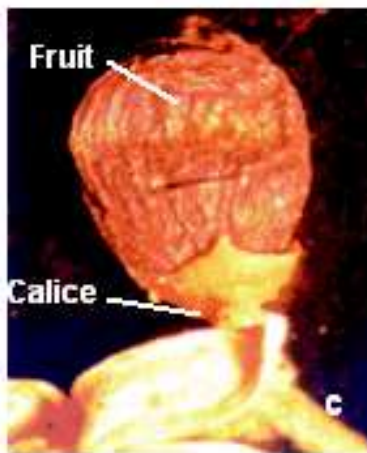
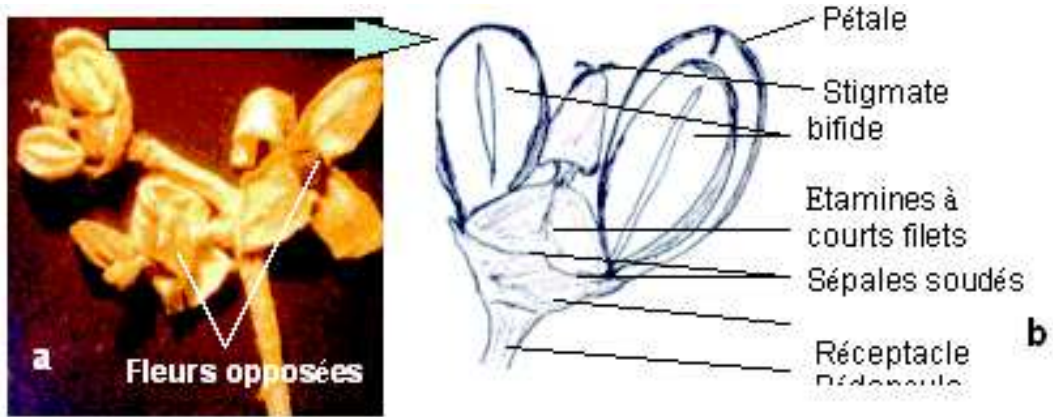
**b** - Inflorescences individuelles de type grappe : *O. e. europaea* (1) et *O. e. laperrinei* (2)

**Figure 20.** Aspect morphologique de l'inflorescence chez l'olivier

	Inflorescence (grappe)			Fleur			Fruit			Dimensions Lxl (mm)	
	Longueur (cm)	Nbre de Grappes par rameau	Nbre de fleurs par grappe	Couleur	Ø corolle (mm)	Longueur pédicelle (mm)	Forme	Epaisseur (mm)			Poids sec (g)
								Pulpe	Endocarpe		
<i>O. e. laperrinei</i>	2 - 4	6 - 10	8 - 6	Blanche	4 - 5	1 - 1,7	Ovoïde globuleuse	0,6 - 1	0,15-0,30	0,06 - 0,08	4-6 x 3-4
<i>O. e. europaea</i> (Zebboudj)	3 - 6	8 - 15	8 - 10	Blanche	5 - 6	1 - 2	Ovoïde globuleuse	2 - 2,5	0,30-1,10	0,35 - 0,50	5-7 x 4-5

(\*) : Mesures moyennes faites sur 20 échantillons.

**Tableau 7 (\*)** : Comparaison des caractères morphologiques reproducteurs (inflorescence, fleur, fruit) entre *O.e. laperrinei* (Hoggar) et *O. e. europaea* (Zebboudj, oléastre de l'Algérois).



d. Rameau jeune avec des fleurs et des fruits



b- *O.e.laperrinei*

Auteurs	Taxons	Feuille (cm)			Inflorescence Longueur (cm)	Fleur (cm)		Fruits (Lxl ; cm)
		Longueur	Largeur	Longueur pétiole		Ø Corolle	Longueur Pédoncule	
Benichou (1962)	<i>laperrinei</i>	2,8 - 4	0,3 - 0,8	0,2 - 0,4	2 - 3,5	0,20-0,25 x 0,20-0,25	0,12	-
	<i>europaea</i>	4 - 6,5	1 - 2	0,3 - 0,5	-	0,46-0,60 x 0,40-0,50	-	-
Médail et al. (2001)	<i>laperrinei</i>	(2,8)4 - 5(7)	(0,3)0,5 - 1(1,5)	0,2 - 0,4	2 - 3	0,4 - 0,6	Développé	0,5-0,8 x 0,4-0,5
	<i>europaea</i>	(2)6 - 6(8)	(0,5)1 - 1,5 (2)	0,3 - 0,6	3 - 7	0,4 - 0,5	Absent	1-3,5 x 0,6-2
Baali- Cherif et al. (2002)	<i>laperrinei</i>	4,60	0,50	0,36	2,41	-	-	0,4 x 0,5
	<i>europaea</i>	5,49	0,84	0,37	3,29	-	-	0,8 x 1,5
Maire (1933)	<i>laperrinei</i>	Epaisseur feuille : 0,5 mm			Fruits (Lxl ; cm)	Frais		0,7-0,8 x 0,55-0,65
						Sec		

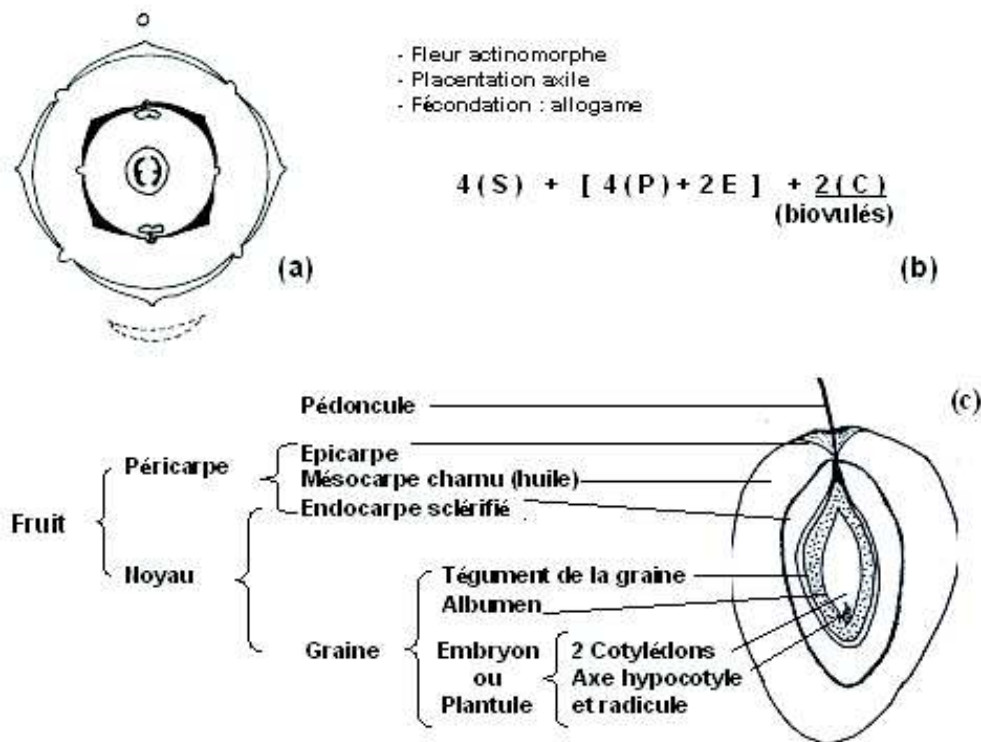
**Tableau 8 :** Données sur les caractères des appareils végétatif et reproducteur d'*O. e. laperrinei* et *O. e. europaea* de quelques auteurs

### c. Discussions

L'examen des résultats des caractères morphologiques des appareils végétatif et reproducteur regroupés dans les **tableaux 6** et **7**, montre que dans leur globalité, ils rejoignent ceux décrits par les différents auteurs cités dans le **tableau 8**. Ainsi, ces observations confirment que la quasi-totalité des caractères pris en compte dans nos comparaisons permettent de distinguer les deux taxons (*O. e. laperrinei* et *O. e. europaea*). Les caractères qui mettent en évidence les différences les plus marquées sont : la forme, la longueur, la largeur et l'aspect de la nervure principale pour les feuilles (appareil végétatif) et le nombre d'inflorescences par rameau, le nombre de fleur par inflorescence et la longueur de l'inflorescence chez l'appareil reproducteur. Les illustrations faites au niveau des figures (**fig. 19** : rameau et feuilles ; **fig. 20** : inflorescence ; **fig. 21** : fleur ; **fig. 22** : fruit) mettent clairement en exergue ces différences. Une dissection a été réalisée au niveau de la fleur et du fruit d'olivier de Laperrine. Elle permet de dresser le diagramme floral, la formule florale

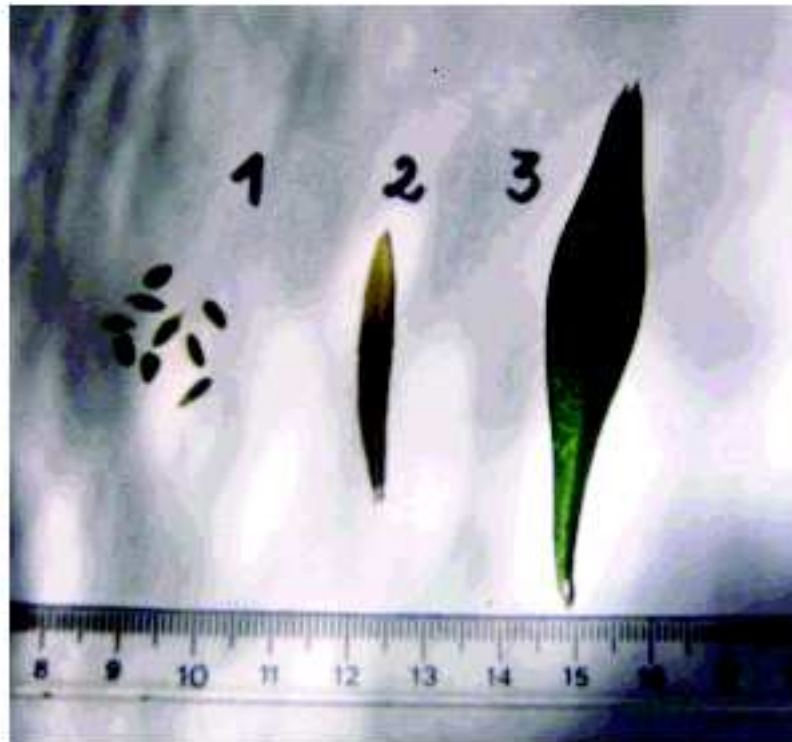


et la coupe longitudinale (**fig. 23**) pour faciliter la lecture des caractères liés à l'appareil reproducteur.



**Figure 23.** Schéma montrant le diagramme floral (a), la formule florale (b) et la coupe longitudinale (c) au niveau du fruit (drupe) de l'olivier de Laperrine, *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Oleaceae)

Enfin, les observations faites sur les pieds de l'olivier de Laperrine des stations non protégées montrent également des différences appréciables par rapport à ceux des stations protégées (**tableau 6**). Ceci est dû tout simplement à l'influence des conditions environnementales, notamment la sécheresse, et ils ne devraient guère avoir de liens sur le plan génétique comme le suggèrent l'étude des aspects moléculaires dans la partie suivante. Les pieds s'adaptent en se rabougrissant et leurs feuilles deviennent très réduites (**fig. 24**) pour résister à toutes les formes de dégradation. Ces dernières constatations ont été signalées par tous les auteurs qui ont étudié ce taxon au Sahara central (Maire, 1934 ; Leredde, 1957 ; Quézel, 1954 ; Benichou, 1962).



b - Oléastre protégé (Zebboudj) de l'Algérois (3).

### 3 - 2 - 1 - 2. Examen du pollen

La reproduction sexuée est un processus complexe composé de plusieurs stades (formation du pollen, de l'ovaire, floraison, fécondation, formation du fruit, de la graine, germination...). Chez l'olivier de Laperrine, elle n'a fait l'objet d'aucune étude détaillée. Nous savons pertinemment que la connaissance de ce processus dans ses différentes étapes est primordiale pour optimiser les stratégies de protection de l'olivier de Laperrine puisqu'il peut directement conditionner sa multiplication. Dans ce travail, nous avons fait simplement quelques observations sur le pollen d'olivier de Laperrine et celui d'*O. e. europaea* (oléastre de l'Algérois) dont l'objectif était surtout d'avoir quelques informations préliminaires sur leur morphologie comparée.

#### a. Méthodologie

Les grains de pollen à observer, provenant de fleurs fixées dans le mélange formol - acide acétique - alcool (FAA), sont extraits directement des étamines et mis entre lame et lamelle dans une goutte d'eau. Le pollen de la station de Tonget (Hoggar) est visualisé par un microscope confocal à balayage à laser (Leica TSC SP2 AOBS) dont la lumière est transmise par « différentiel interference contrast, DIC » ; (on Nomarski optics). Ce microscope est couplé avec une autofluorescence ayant une excitation de 520 nm. Par contre, les pollens de l'olivier de Laperrine du Tassili et celui du Zebboudj (oléastre de l'Algérois) ont été observés par un microscope photonique ordinaire (Leitz). Les différentes mensurations effectuées au niveau du grain de pollen ont été faites à l'aide d'un micromètre.

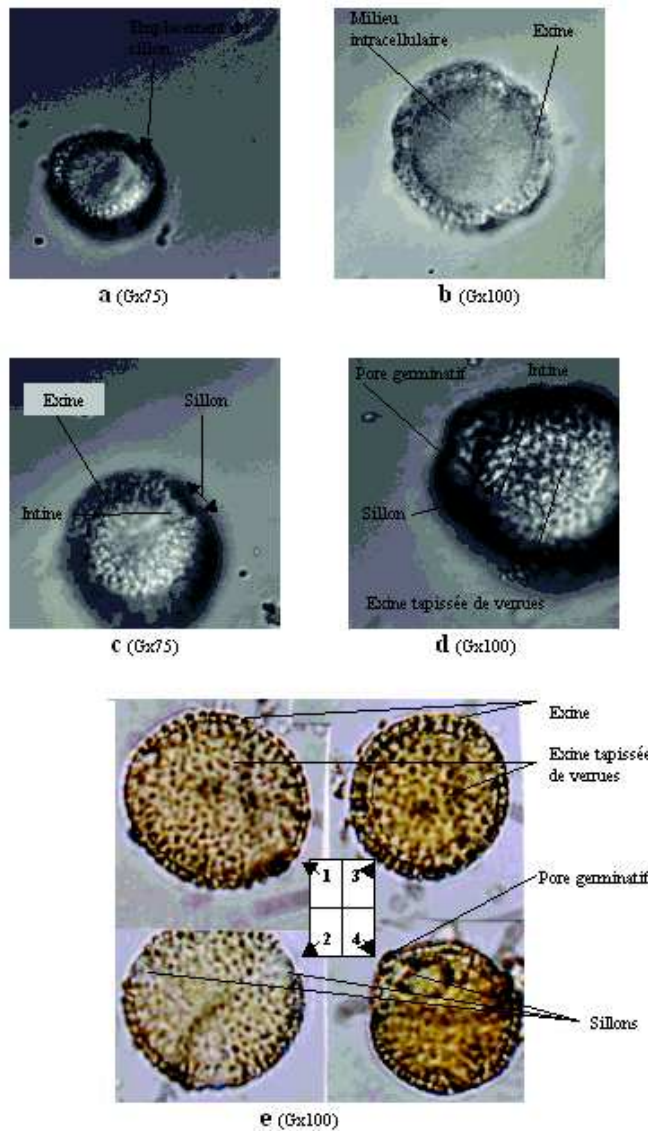
#### b. Résultats

Les résultats issus de ces observations sont présentés dans le **tableau 9** et par la **figure 25**. Un modèle de comparaison qu'on a confectionné et qui est consigné dans la **figure 26 (a & b)** montrera les schémas généraux du grain de pollen pour interpréter nos observations.

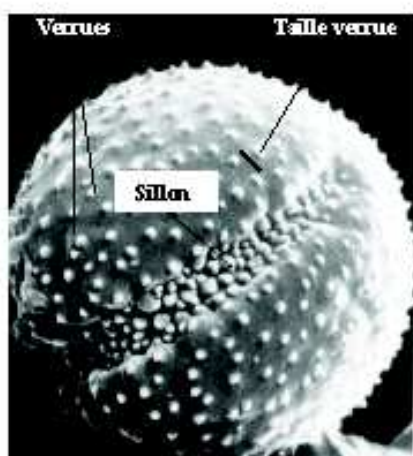
Taxons	Localités	Diamètre	Sillon		Exine	Verrue
			Longueur	Largeur		
<i>O. e. laperrinei</i>	Hoggar	22,6 ± 2,19	9,19 ± 0,99	2,73 ± 0,39	1,33 ± 0,21	0,38 ± 0,04
	Tassili	22,0 ± 2,10	9,09 ± 1,00	2,62 ± 0,25	1,48 ± 0,38	0,36 ± 0,04
<i>O. e. europaea</i> (Zebboudj)	El-Harrach	23,2 ± 2,45	9,92 ± 1,12	2,56 ± 0,36	1,28 ± 0,19	0,35 ± 0,04

Nombre d'échantillons examinés : 20

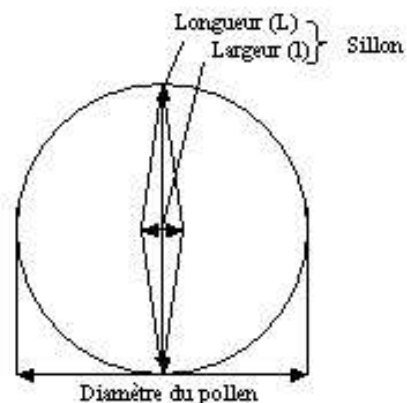
**Tableau 9** : Comparaison au niveau des grains de pollen de l'olivier de Laperrine (Hoggar et Tassili) et de l'oléastre Zebboudj de l'Algérois. Les dimensions sont données en micromètre.



e - photonique (Leitz), *O. e. europaea* (Zebboudj), oléastre de l'Algérois (1 et 2) et *O. e. laperrinei* de la station de Tamrit au Tassili (3 et 4).



c - Photo d'un grain de pollen de clématite montré comme un modèle de comparaison (J.-C. et F. Roland, 1977, modifié)



d - Schéma donnant l'origine des mensurations effectuées sur le grain de pollen de l'olivier (longueur, largeur et diamètre du pollen)

Figure 26 . Schémas montrant l'aspect général du pollen

### c. Discussions

Les résultats (tableau 9) montrent à travers l'ensemble des paramètres mesurés aussi bien pour l'*O. e. laperrinei* du Hoggar et du Tassili que pour *O. e. europaea*(Zebboudj) de l'Algérois, la nette différence entre ces deux taxons, notamment en ce qui concerne le diamètre du grain de pollen, l'épaisseur de l'exine et la taille des verrues. Par ailleurs, nos résultats révèlent l'absence de divergences majeures entre les pollens d'*O. e. laperrinei* du Hoggar et du Tassili. Les tests t de signification sur les mesures effectuées sur le pollen (tableau 10) montrent que les paramètres les plus significatifs ( $> 1,96$ ) pour distinguer les deux taxons sont la longueur du sillon, l'épaisseur de l'exine et la taille des verrues. Benichou (1962), en comparant des pollens de *laperrinei* d'une région du Hoggar (Temmez-Lezzene) et ceux d'*O. e. europaea* de l'Algérois (Hydra, Alger) avec la même procédure, constatait également des différences indiscutables.

Taxons et lieux	Diamètre pollen	Longueur sillon	Largeur sillon	Epaisseur exine	Taille Verrue
<i>O. e. laperrinei</i> (Hoggar)	0,85 <sup>ns</sup>	2,16 <sup>s</sup>	1,43 <sup>ns</sup>	0,85 <sup>ns</sup>	2,81 <sup>s</sup>
<i>O. e. europaea</i> (Algérois)					
<i>O. e. laperrinei</i> (Tassili)	1,69 <sup>ns</sup>	2,44 <sup>s</sup>	0,66 <sup>ns</sup>	2,10 <sup>s</sup>	0,98 <sup>ns</sup>
<i>O. e. europaea</i> (Algérois)					

Test t pour des échantillons indépendants :  $t = 1,96$ ,  $\alpha = 5\%$  (<sup>s</sup> significatif ; <sup>ns</sup> non significatif)

**Tableau 10** : Tests *t* de signification pour les mesures effectuées sur le pollen (par paire)

### 3 - 2 - 2. Etude histo-anatomique

Cette étude est représentée par l'analyse des différentes coupes transversales réalisées au niveau des tiges, feuilles et racines.

#### 3 - 2 - 2 - 1. Méthodologie

Au préalable, les organes (tiges, feuilles et racines) dont sont issus les coupes transversales (CT) étaient conservés dans le FAA. Aucun de ces organes ne présentait une quelconque anomalie. La procédure utilisée pour l'obtention des coupes pour tous les organes considérés pour les deux taxons (*O. e. laperrinei* et *O. e. europaea*) est celle décrite dans le manuel pratique des coupes d'histologie végétale du CIRAD édité par Schwendiman (1989), exception faite pour les coupes au niveau des racines de l'oléastre de l'Algérois où celles-ci sont réalisées à main levée dans de la moelle de sureau. Les coupes sont observées au microscope photonique (MP).

#### 3 - 2 - 2 - 2. Résultats et discussions

##### a - Les tiges

Les coupes transversales ont été effectuées dans des régions proches du méristème apical de la tige (**fig. 27 et fig. 28**). Ces coupes présentent les mêmes caractéristiques histo-anatomiques que celles d'une coupe transversale modèle de dicotylédone (**fig. 28 c**).

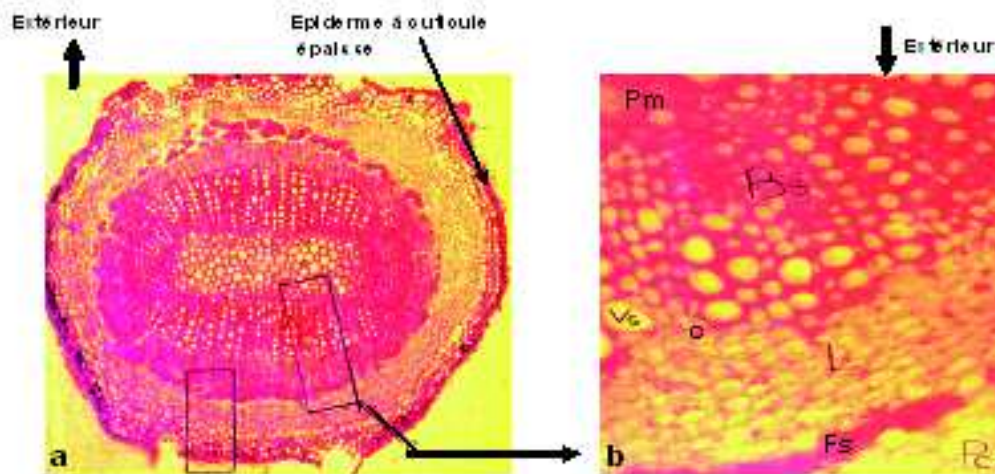


Figure 27. CT au niveau d'une tige d'*O. e. laperrinei* du Hoggar, vue au MP :  
 a - Vue d'ensemble (x 6.8)  
 b - Vue de détail de la partie centrale (x 276.25)

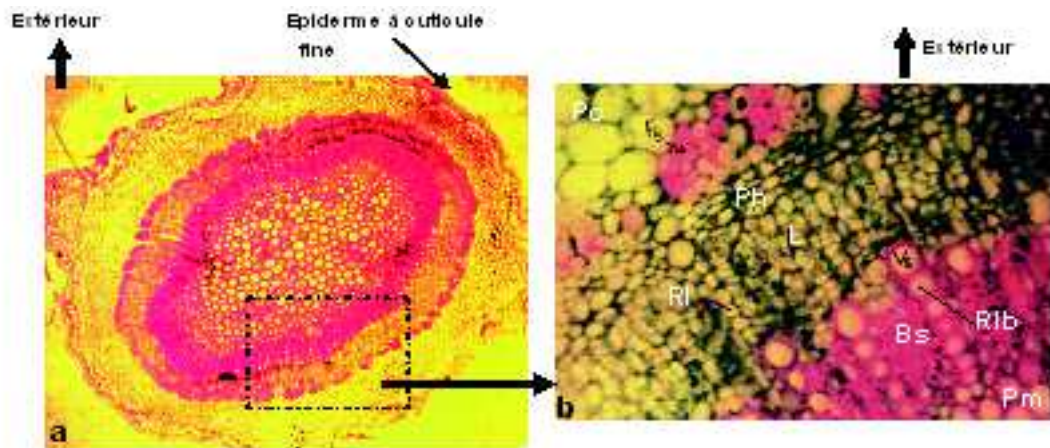
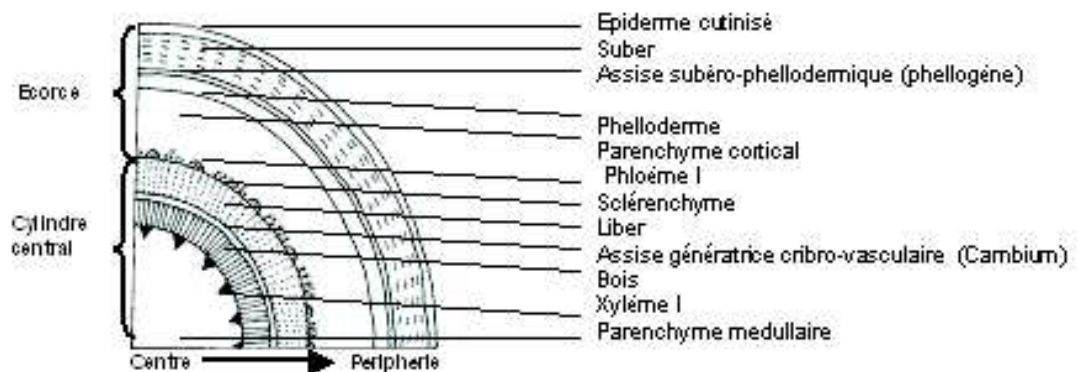


Figure 28. CT au niveau d'une tige d'un oléastre (Zebboudj) de l'Algérois, vue au MP :  
 a - vue d'ensemble (x 68)  
 b - vue de détail d'une partie centrale (x 276.25)

Pc : Parenchyme cortical ; Pm : Parenchyme médullaire ; F : Fibre de sclérenchyme ; Ph : Phloème ; Va : Vaisseau ; B : Bois ; L : Liber ; C : Cambium ; Ri : Rayon ligneux ; Rib : Rayon libérien.

**Figure 28c.** Schéma général modèle d'un quart de coupe transversale au niveau d'une tige âgée de dicotylédone



**Figure 28c.** Schéma général modèle d'un quart de coupe transversale au niveau d'une tige âgée de dicotylédone

La comparaison entre les coupes d'olivier de Laperrine et d'oléastre (fig. 27 et fig. 28) ne

montre que peu de différences significatives. L'épiderme est plus cutinisé chez l'olivier de Laperrine, une différence qui est sans doute liée aux conditions du milieu (le Hoggar est plus sec que l'Algérois). Par ailleurs, les fibres de sclérenchyme sont beaucoup plus importantes chez l'olivier de Laperrine que chez l'oléastre. Benichou (1962) a également relevé des différences au niveau du nombre de files de vaisseaux du bois : chez la sous-espèce *europaea*, le nombre étant supérieur à celui de la sous-espèce *laperrinei* (28 à 32 contre 17 à 21). Nous n'avons pas pu confirmer cette observation. Ceci pourrait être dû à l'âge des tiges qui serait différent entre notre étude et celle de Benichou (1962) ou à l'emplacement de la coupe qui n'est pas faite au même endroit.

## b - Les feuilles

De la même manière que pour les tiges, les coupes transversales ont été effectuées sur des feuilles aux stades de développement semblables (milieu du rameau). Ces coupes [fig. 29 a (*laperrinei*) et b (*oléastre*)] montrent également les mêmes structures que celles d'une coupe transversale modèle de dicotylédone (fig. 30).

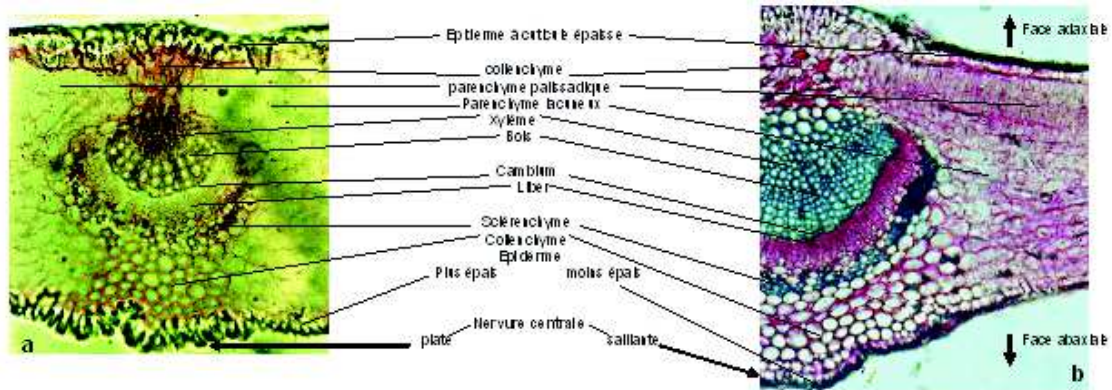


Fig. 29 - CT au niveau de feuilles d'olivier: *laperrinei* (a) ; Gx 110.25 et l'oléastre, Zebboudj (b) ; Gx 276.25

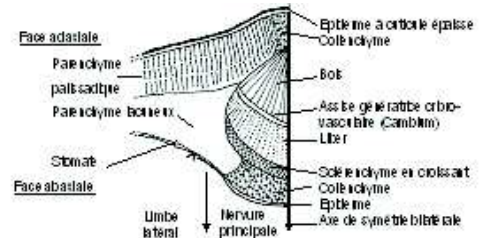
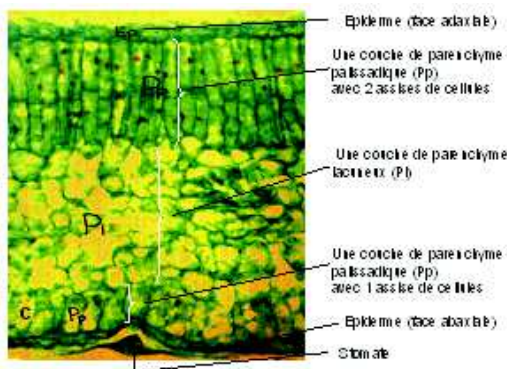


Fig. 30 - Schéma général modèle d'une CT au niveau de la feuille de dicotylédone

C - Vue d'une partie latérale d'une CT du limbe de *laperrinei* montrant l'existence de parenchyme palissadique dans les 2 faces de la feuille ; Gx 276.25

Toutefois, contrairement aux tiges, les feuilles font ressortir plusieurs caractères distinctifs entre l'oléastre de l'Algérois (Zebboudj) et l'olivier de Laperrine, intéressants à prendre en compte dans cette comparaison. Ce sont les épaisseurs de l'épiderme et de la cuticule, le nombre des assises dans les couches de parenchyme palissadique (fig. c ; *laperrinei*), le nombre de stomates et l'aspect de la nervure centrale. La quantification de ces différences engendrées par ces structures est matérialisée par des mesures moyennes qui sont consignées dans le **tableau 11**.

L'examen des résultats de ce **tableau 11** montre des différences nettes pour l'ensemble des paramètres mesurés pris deux à deux, pour les deux taxons. En effet, l'épaisseur des deux faces (abaxiale et adaxiale) de la cuticule et de l'épiderme est plus importante chez *O. e. europaea* que chez *O. e. laperrinei*. Par contre, le nombre de stomates par mm<sup>2</sup> (face abaxiale), l'épaisseur (face adaxiale) et le nombre d'assises (face abaxiale) du parenchyme palissadique sont plus importants chez *O. e. laperrinei* que chez *O. e. europaea*. De plus, la nervure centrale est de forme plate pour l'olivier de Laperrine et est de forme sillante pour l'oléastre de l'Algérois. A travers ces constatations, on peut considérer avec beaucoup de certitude que les deux taxons sont distincts. C'est pour cela que la plupart des auteurs ont généralement privilégié les caractères liés à la feuille par rapport à ceux de la tige ou de la racine dans leurs études comparatives au sein du complexe *Olea europaea* pour distinguer les taxons (Benichou, 1962 ; Médail *et al.*, 2001 ; Vargas *et al.*, 2001 ; Green, 2002 ; Baali-Cherif *et al.*, 2002).

Taxons	Face de la cuticule		Face de l'épiderme		Nbre de stomates par mm <sup>2</sup>	Face du parenchyme palissadique				Nervure centrale
	axiale	abaxiale	axiale	abaxiale		axiale		abaxiale		
						Epaisseur	Nombre d'assises	Epaisseur	Nombre d'assises	
<i>laperrinei</i>	3,88 ± 0,24	3,55 ± 0,22	14,81 ± 2,19	14,35 ± 1,94	243 ± 17	10,54 ± 2,23	2	30,12 ± 3,19	1	plate
<i>europaea</i> (Zebboudj)	9,89 ± 0,37	5,04 ± 0,29	18,71 ± 2,82	22,31 ± 3,87	218 ± 11	78,32 ± 8,1	2	-	0	saillante

(\*) : Mesures moyennes faites sur 10 échantillons.

**Tableau 11 (\*)** : Anatomie comparative de la feuille d'*O. e. laperrinei* et d'*O. e. europaea* : Epaisseur (micromètre) de la cuticule, de l'épiderme et du parenchyme palissadique (pp) et nombres de stomates et d'assises dans le pp.

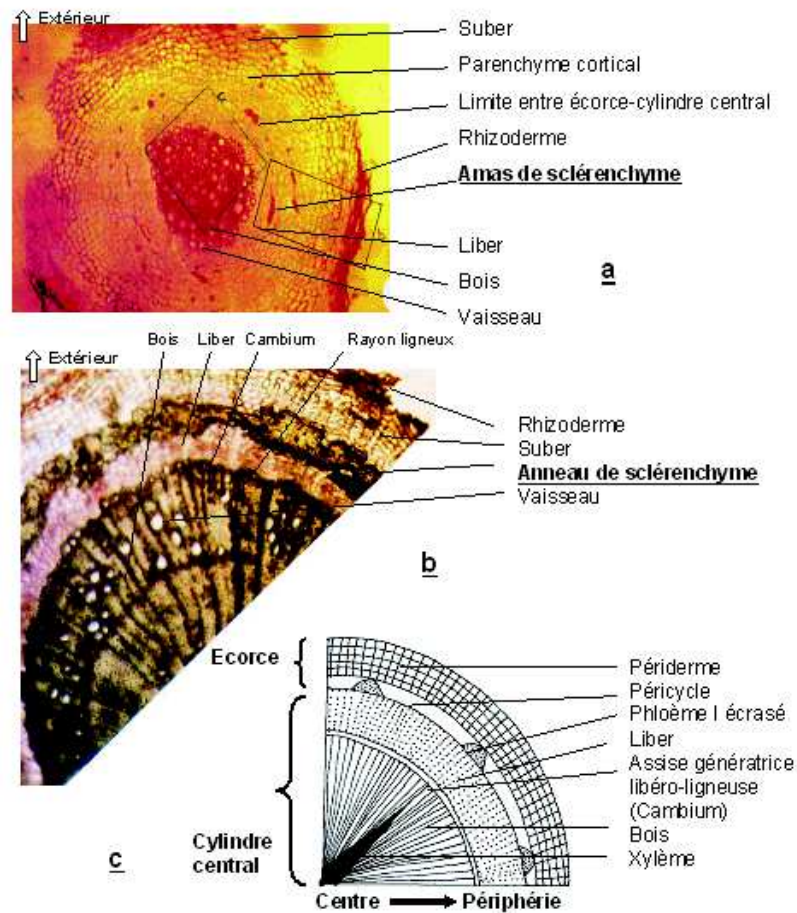
### c - Les racines

A notre connaissance, aucune étude se rapportant au système racinaire d'*O. e. laperrinei* n'a été réalisée à ce jour. D'après Loussert & Brousse (1978), le développement des racines chez l'olivier est en général surtout fonction des caractéristiques physico-chimiques du sol. En effet, l'arbre adaptera son système racinaire, qui est essentiellement fasciculé, à la profondeur du sol suivant sa texture et sa structure. Quand les conditions d'alimentation en eau sont difficiles, l'arbre émet des racines plus profondes. Par exemple, dans les sols sablonneux de l'oliveraie de Sfax (Tunisie) où les précipitations annuelles moyennes sont de 200 mm, les oliviers adultes exploitent le sol jusqu'à 6 m de profondeur à la recherche de l'humidité (Yankowitch & Berthelot, 1947). Pour Maillard (1975), quand les disponibilités en eau sont suffisantes, chez *O. e. europaea*, les racines se localisent surtout pour les sols riches à une profondeur de 50 à 70 cm. C'est le cas par exemple des oliviers de la plaine de Beni-Slimane (Algérie).

Sur le terrain, au cours de la collecte d'échantillons de sol au niveau de la rhizosphère d'oliviers de Laperrine de la station de Tonget (Hoggar), nous avons relevé les constatations suivantes : les sols sont très durs à creuser, ils sont constitués de grès. A 25 cm de profondeur, on peut ramasser de la terre, au niveau des petites crevasses, de structure sableuse très pauvre en matière organique et avec des petites mèches de la taille de cheveu représentant les racines.

Une coupe transversale au niveau d'un brin de racine (de *laperrinei*) pris au hasard dans cette collection de sol a été faite. Elle montre une épaisseur de l'écorce supérieure à celle du cylindre central, un rhizoderme plus épais. Les différents types de tissus qu'on a pu mettre en évidence sont représentés dans la **figure 31a**. Sa comparaison avec une coupe similaire d'*O. e. europaea* (Zebboudj) ; (**fig. 31b**) ne montre aucune différence appréciable mise à part l'état du sclérenchyme : en amas (*laperrinei*) et en anneau (oléastre de l'Algérois). Des tentatives analogues effectuées par Baali-Cherif *et al.* (2002) et utilisant les mêmes méthodes d'études n'ont montré aucune divergence. Ceci pourrait être dû aux méthodes de coupe utilisées qu'il faut beaucoup affiner (microscopie électronique) ou bien, comme c'était le cas chez la tige, à l'âge de l'organe ou le niveau dans laquelle a été faite la coupe. Il faut signaler encore que les structures histo-anatomiques de racines ou de tiges (dicotylédones) se confondent généralement quand elle deviennent âgées. Sans doute, Benichou (1962) n'a pas montré la comparaison des racines des deux taxons à cause du manque de résultats. Ce qu'on peut dire au moins pour cet essai, c'est que les divers tissus repérés au niveau des coupes (**fig. 31 a & b**) sont ceux d'une coupe transversale modèle faite au niveau d'une racine dicotylédone (**fig. 31 c**)





**Figure 31.** Coupe transversale au niveau d'une racine vue au MP:

a- Vue d'ensemble (x26,56): Olivier de Laperrine

b- Vue d'ensemble (x26,56): Oléastre de l'Algérois

c- Schéma de CT modèle de racine de dicotylédone

#### 4. Essais de multiplication par semis

La régénération de l'olivier de Laperrine par semis serait un moyen de multiplication à grande échelle. Toutefois, les populations étant généralement très réduites (en particulier si on considère le nombre d'individus capables de produire du pollen et/ou des graines), la multiplication par graines pourrait avoir des conséquences néfastes sur la diversité génétique des peuplements reconstitués (i.e. risque d'érosion génétique). Une étude de la floraison et de la fructification est donc nécessaire pour mieux comprendre la reproduction sexuée de l'olivier de Laperrine.

En effet, depuis la découverte de l'olivier de Laperrine (Duveyrier, 1845), aucune régénération naturelle n'a été observée. Dans les conditions artificielles (laboratoire et serre), la régénération par la voie sexuée a été réalisée par Baali-Cherif *et al.* (2002) et par Benarar & Bouguedoura (2003) à partir de graines récoltées à la station de Hadriane (Hoggar). Les huit plants issus de cette germination sont actuellement âgés de 9 à 10 ans dont trois à Tamanrasset (Hoggar) et cinq à Alger (quatre au jardin d'essai d'El-Hamma et

un à l'INA El-Harrach). Au cours de cette étude, on montrera les résultats sur la collecte des fruits et ceux sur les essais de la germination au cours de nos différentes missions au Hoggar et au Tassili.

#### 4 - 1. Récolte de semis

##### 4 - 1 - 1. Résultats

Au cours de nos différentes missions effectuées depuis 1996, principalement dans le Hoggar, les nombres de pieds qui ont fleuri et qui ont fructifié que nous avons pu relever sont résumés dans le **tableau 12**.

Station	Nombre total de pieds/station observé	Nombre de pieds/station relevé	Pieds en fleurs ( <b>Pfl.</b> )						Pieds en fruits ( <b>Pfr.</b> )					
			1996	2000	2001	2004	2005	2007	1996	2000	2001	2004	2005	2007
<b>HOGGAR</b>														
Hadriane	50	26	3	0	0	2	0	1	3	0	0	2	0	1
Adjellala	16	16	0	0	0	2	0	-	0	0	0	av	0	7
Tonget	3	3	0	3	0	3	0	3	0	av	0	3	0	3
Inerjiouène	7	7	0	0	3	0	0	-	0	0	↓	0	0	-
Tizoïadj (Falaise)	7	7	0	-	-	-	-	7	0	-	-	-	-	6
Akersak ar (Plateau)	50	40	0	-	-	-	-	5	0	-	-	-	-	3
Tm.Hammor	100	20	0	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	1
<b>TASSILI</b>														
Tamrit	70	60	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-

av : avortement

**Tableau 12** : Le nombre de pieds d'olivier de Laperrine en floraison (**Pfl.**) et en fructification (**Pfr.**) par rapport au nombre de pieds relevé par station au cours de nos missions (1996, 2000, 2001, 2004, 2005 et 2007) au Hoggar et au Tassili.

Depuis notre première mission en 1996, nous avons recensé la fructification à trois reprises, en 1996 (3 arbres sur 26, soit 11,5%), en 2004 (5 sur 29 ; 17,2%) et en 2007 (21 sur 112 ; 18,8%). Les fruits de 1996 ont servi à la réalisation des essais sur la germination de ce travail et ceux de 2004 n'ont pas été récoltés. Les fruits de 2007 sont prévus pour de nouvelles perspectives (en particulier pour mesurer l'impact sur la diversité génétique de la multiplication de l'olivier de Laperrine par graines). Dans les années 1997, 1998, 1999 et 2003, nous n'avons pas de données disponibles. En 2000, 2001 et 2004, nous avons observé des fleurs dans les pieds des stations Adjellala, Tonget et Inerjiouène qui, par la suite n'ont pas donné de fruits (avortement). Il faut signaler que seuls les pieds accessibles ont été relevés dans les stations explorées (cf le nombre total de pieds dans le tableau 2). Enfin, dans la seule sortie sur le terrain de 2005, dans la station de Tamrit au Tassili, nous avons relevé 7 pieds en fleurs, mais nous ignorons leur devenir, car la suite de la mission n'a pas été effectuée.

##### 4 - 1 - 2. Discussions

L'olivier de Laperrine ne fructifie qu'occasionnellement après de bonnes pluies de printemps. De plus, quand il fructifie la production est généralement faible, et dans les meilleures conditions elle est de l'ordre de 0,5 à 1 kg par arbre. A cela, il faut ajouter encore le problème lié à la collecte des fruits. Les populations d'*O. e. laperrinei* se trouvent dans des stations éloignées difficiles d'accès. La période de fructification est courte (Mai - Août). Quand les fruits mûrs tombent par terre, ils sont presque immédiatement pris par les fourmis et les

rongeurs. Il n'a jamais été observé la moindre trace de fruit dans l'environnement du tronc des arbres après les quelques mois qui suivent la fructification.

Tous ceux qui ont connu l'olivier de Laperrine tels que Maire (1933), Leredde (1957), Benichou (1962), Sahki (com. pers.) ainsi que les Touaregs de la population locale signalent également que la fructification peut être conséquente lorsque la saison de pluie est bonne. Hartman & Panetsos (1962) considèrent que l'avortement de l'ovaire serait sous la dépendance de facteurs trophiques, notamment d'un important déficit hydrique. Cependant, un pied d'*O. e. europaea* de l'Algérois (variété Chemlal) introduit vers 1985 dans une oasis de la région de Tahifet (Hoggar) et qui n'a jamais connu de problème de restriction d'eau fleurit toujours mais n'a jamais donné de fruits. L'autoincompatibilité (Ortega & Neto, 1935) et l'existence de stérilité mâle (cas des variétés « Chemlal de Kabylie », « Aaroun », « Hamra » ou « Zarazzi » par exemples ; Besnard *et al.*, 2000) pourraient toutefois expliquer cette observation.

#### **4 - 2. Essais sur la germination**

Dans le but d'avoir quelques éléments de réponse sur la possibilité de germination de l'olivier de Laperrine en vue d'établir une pépinière (un verger), nous avons mené une petite étude à partir des fruits que nous avons récoltés dans la station de Hadriane dans le Hoggar en 1996 (un mélange de fruits issus de trois arbres constitué d'environ 1500 unités et d'un poids de 100 g).

##### **4 - 2 - 1. Protocole expérimental**

Nous avons réalisé quatre essais en faisant varier différents paramètres (Côme, 1970; Bonnet-Masimbert, 1975 ; Loussert & Brousse, 1978). Pour nos essais, ces paramètres qui ont été testés sont l'eau, le substrat (sable et terreau), l'utilisation ou non de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, la température et l'obscurité. Le protocole expérimental a été réalisé durant la période Février - Mars - Avril de l'année 1999 au laboratoire à Alger. Les essais sont réalisés sur des lots de 50 [fruits (noyau + pulpe) ou noyaux]. Nous avons utilisé un fruit ou un noyau par boîte de pétri dans nos différents traitements. L'irrigation est faite par de l'eau distillée. Les tests et résultats effectués pour l'ensemble des essais se résument comme suit :

##### **4 - 2 - 2. Résultats**

###### **Essai 1**

Un lot de fruits et un autre de noyaux préalablement mis à tremper dans de l'eau distillée pendant trois jours sont semés dans du terreau + sable (1/1). Aucune germination (0%) n'a été observée durant la période d'essai (35 jours) dans les conditions environnementales du laboratoire (T = 22°C, HR = 70%, Obscurité).

###### **Essai 2**

Les fruits sont scarifiés (cassure avec soin du noyau ou endocarpe) pour permettre la sortie de l'embryon contenu dans la graine au cours de la germination, puis sont mis à germer dans deux substrats différents, un lot dans du papier filtre et l'autre dans du terreau + sable (1/1), dans les mêmes conditions de laboratoire (T = 22°C, HR = 70%, Obscurité). Au bout de 35 jours, nous avons observé 38% de germination pour le premier substrat et 100% pour le deuxième. Nous avons pris la période de 35 jours comme une référence de comparaison dans les divers traitements car, c'est la durée nécessaire pour obtenir 100% de germination.

### Essai 3

Trois lots de fruits sont mis pendant 24 h dans de l'acide sulfurique ( $H_2SO_4$ ) à différentes concentrations, puis on les a semé dans le substrat terreau + sable (1/1), les pourcentages de germination sont reportés dans le **tableau 13**.

Lot	$H_2SO_4$	% germination après 35 j
1	N/10	34%
2	N	22%
3	2N	18%

**Tableau 13** : Le pourcentage (%) de la germination après 35 jours en fonction de la concentration d'  $H_2SO_4$

### Essai 4

Deux lots de noyaux bien nettoyés ont séjourné pendant 3 jours, l'un à 5°C et l'autre à la température ambiante de 22°C, puis sont placés dans le substrat terreau + sable (1/1), les pourcentages de germination sont reportés dans le **tableau 14**.

Lots	Températures (°C)	% germination après 35 j
1	5	52%
2	22	0%

**Tableau 14** : Le pourcentage (%) de la germination après 35 jours en fonction de la température

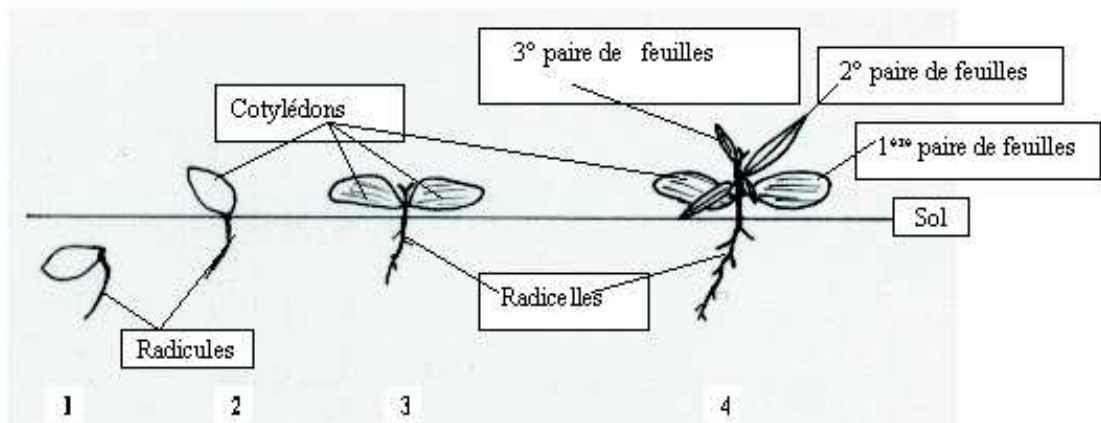
### 4 - 2 - 3. Discussions

A la lumière de ces résultats, il ressort que l'inhibition de la germination est de type tégumentaire car, pour que la graine germe, il faut soit casser le noyau, soit ramollir par un acide l'endocarpe sclérifié du fruit ou soit lever la dormance par le froid pour permettre à l'embryon de se développer. Certes, la baisse de la température et le trempage des semis dans de l'acide sulfurique dilué accélèrent la levée de la dormance et améliorent le taux de germination. Toutefois, ces deux techniques demeurent moins performantes que la scarification mécanique (cassure du noyau). Cette dernière est assez difficile à mettre en œuvre car, il est nécessaire de provoquer la cassure de l'endocarpe (qui est très fin) sans abîmer l'embryon. Benarar & Bouguedoura (2003), dans leurs essais sur la germination des graines d'olivier de Laperrine dans la pépinière de la station de l'INRF de Tamanrasset au Hoggar ont abouti à la même conclusion. Leur meilleur taux de germination (graines scarifiées) obtenu est de 28% dans un substrat (sable + terreau). Cette différence résulte sans doute aux conditions expérimentales qui ne sont pas les mêmes.

Dans les conditions naturelles du Sahara où sévit une extrême sécheresse, la germination des fruits d'olivier de Laperrine est bien évidemment extrêmement difficile. Pour cela, une graine devra trouver suffisamment d'eau tout en ayant levé sa dormance. Nous

pouvons supposer qu'un tel événement est très improbable dans les conditions naturelles actuelles. De plus, un autre aléa qui s'ajoute est celui de la production de graines en grande quantité pour reconstituer des peuplements.

Au cours de notre expérimentation, nous avons aussi suivi les stades de développement de la graine depuis la germination jusqu'au stade plantule (quatre feuilles). Au début, la graine se gonfle en s'imbibant d'eau, son tégument se déchire et laisse la radicule apparaître, puis celle-ci pénètre dans le sol, parallèlement, la tigelle se rallonge vers le haut et emporte avec elle la graine qui va faire apparaître les deux cotylédons. Ces derniers, qui à leur tour vont se transformer pour devenir les premières feuilles (germination épigée). Par la suite, la gemmule va se rallonger pour donner encore deux feuilles opposées. A ce stade, la plantule présente ses quatre premières feuilles disposées en croix (**fig. 32**).



4 - Stade de formation des premières feuilles en croix (opposées alternées)

Un plant issu de ces essais de germination (**Fig. 33**) est actuellement en croissance à l'INA El-Harrach.



(âge : 8 ans, jardin Botanique, INA El-Harrach).

## 5. Conclusion

---

Dans cette première partie, il ressort de ces travaux entrepris sur l'olivier de Laperrine, un certain nombre de points intéressants représentés par les résultats suivants :

- Tout d'abord, en vue de faire l'inventaire de l'olivier de Laperrine, nos observations sur le terrain ont montré que les effectifs des populations du Hoggar et du Tassili étaient très probablement sous-estimés. On estime à plusieurs milliers d'arbres les populations du sud algérien. Cependant cet arbre reste rare, et son absence de régénération naturelle (par voie sexuée) étant nulle où extrêmement limitée, la menace qui pèse sur sa disparition est loin d'être exclue.

- Par ailleurs, la systématique du genre *Olea* a été reconsidérée récemment et notamment par Green (2002). Les confusions taxonomiques sur l'olivier de Laperrine, en particulier celles liées à son appartenance au complexe *O. europaea* et à sa nomination scientifique ont été indiscutablement levées. Nos observations suggèrent effectivement que ce taxon doit être considéré comme une sous-espèce différente dans ce complexe. Les études et les observations faites sur le port extérieur de l'arbre ont montré que celui-ci a une architecture en buisson. Les études comparatives faites sur la morphologie des appareils végétatif et reproducteur ont donné des éléments pour considérer que les deux sous espèces *laperrinei* et *europaea* sont effectivement taxonomiquement distinctes. La même étude comparative à l'échelle histo-anatomique montre que les critères foliaires permettent de bien distinguer les deux taxons contrairement aux tiges et aux racines. Les mesures de dimensions faites au niveau du grain de pollen montrent aussi des différences notables. D'autre part, l'examen des espèces végétales (arbres et arbustes) vivant au voisinage

de l'olivier de Laperrinea fait découvrir l'existence d'une association étroite entre celui-ci et le pistachier de l'Atlas. Ceci est intéressant dans l'étude des relations entre les sous espèces du complexe *O. europaea* car, une association similaire et équivalente entre *O. e. europaea* et le lentisque (*Pistacia lentiscus*) se trouve également dans l'Algérois (Bassin Méditerranéen).

- Les essais de germination ont révélé essentiellement que les graines germent plus facilement quand elles sont scarifiées par des procédés mécaniques et les plantules qui en résultent se transplantent aisément en champ pour poursuivre leur croissance. Nos résultats sont donc très encourageants en vue de reconstituer des peuplements à partir de la germination de graines, mais des études génétiques sont encore nécessaires pour mieux estimer l'impact d'une telle pratique sur la diversité des populations nouvellement constituées (voir 2<sup>nde</sup> partie de la thèse).

## **PARTIE B - Apport de l'outil moléculaire dans l'étude des populations de l'olivier de Laperrine et de leurs stratégies de reproduction**

### **1 - Introduction**

---

En Algérie, l'olivier de Laperrine est confiné dans les zones refuges des massifs du Hoggar et du Tassili et semble relativement isolé de l'influence humaine. Des milliers de kilomètres de désert l'isolent des autres taxons du complexe *Olea europaea* (Rubio de Casas *et al.*, 2006 ; Besnard *et al.*, 2007c). De plus, bien qu'il y ait une apparente absence de régénération naturelle dans les populations du Hoggar, sa longévité devrait contribuer à maintenir un patrimoine génétique stable depuis des milliers d'années. La domestication de l'olivier dans le pourtour du bassin méditerranéen a considérablement modifié l'organisation de la diversité génétique des populations sauvages méditerranéennes, en particulier du fait des flux de gènes entre les formes cultivées et sauvages (Besnard, 1999). L'olivier de Laperrine en tant que taxon isolé ne devrait donc pas être touché par ce phénomène. L'étude comparative de la diversité génétique de l'olivier de Laperrine et de l'olivier méditerranéen pourrait donc être intéressante afin de mieux comprendre la dynamique des populations naturelles d'olivier.

Afin de mieux cerner sa position systématique, l'olivier de Laperrine a été récemment caractérisé à l'aide de différentes techniques moléculaires : AFLP (Angiolillo *et al.*, 1999 ; Rubio de Casas *et al.*, 2006), RAPD (Besnard, 1999 ; Besnard *et al.*, 2002a ; Hess *et al.*, 2000 ; Médail *et al.*, 2001), ISSR (Hess *et al.*, 2000). Le polymorphisme des ADN cytoplasmiques a également fait l'objet de plusieurs études (Baldoni *et al.*, 2002 ; Besnard & Bervillé, 2002 ; Besnard *et al.*, 2002b ; 2007c). Bien que l'échantillonnage était généralement très limité, ces travaux ont permis de trancher une fois pour toute sur sa position systématique, confirmant que l'olivier de Laperrine doit être considéré comme une sous-espèce distincte dans le complexe *O. europaea* (Green, 2002). Par ailleurs, d'après ces analyses moléculaires (Besnard *et al.*, 2007c), il a été montré que les populations de l'Afrique Saharienne (Nord Niger, Sud Algérie, Nord Ouest Soudan et Sud Egypte) sont issues de migrations récurrentes depuis l'Afrique tropicale (subsp. *cuspidata*) et la

Méditerranée (subsp. *europaea* et *maroccana*). Toutefois, lorsque ce travail de thèse a été initié (1997), aucune étude populationnelle n'avait été effectuée spécifiquement sur ce taxon.

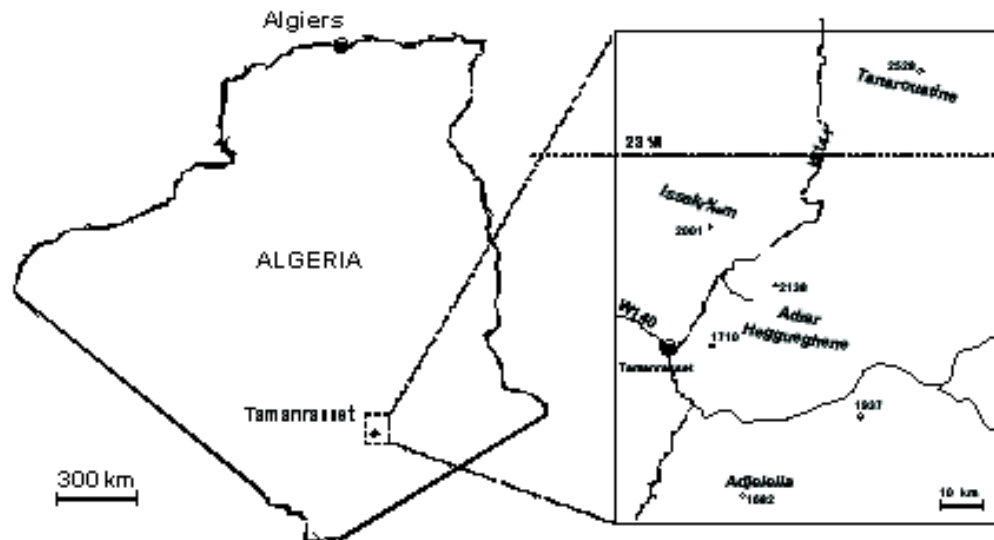
Dans la présente partie de ce travail, nous avons étudié des populations d'olivier de Laperrine du Hoggar à l'aide de marqueurs moléculaires dans les buts de mieux connaître leur diversité génétique et de comprendre le mode préférentiel de reproduction des populations. Nous avons utilisé pour cela deux types de marqueurs : des microsatellites de l'ADN nucléaire et des polymorphismes (de longueurs et de présence/absence de sites de restriction) de l'ADN chloroplastique (appelé aussi ADN plastidique). Quelques pieds d'oléastres provenant du Mont Belloua (Est Algérie), d'Alger (Algérie) et de Tamanar (Sud Maroc) ont également été analysés avec les mêmes outils à titre de comparaison. Cette étude a fait l'objet d'une publication dans *Annals of Botany* (Baali-Cherif & Besnard, 2005 ; **Annexe 2**). Par ailleurs, ce travail a été suivi par une étude plus approfondie de génétique des populations des massifs du Hoggar (Algérie), du Tassili (Algérie), du Tamgak (Niger) et des Baguezanes (Niger) à l'aide des mêmes outils moléculaires en collaboration avec F. Anthelme (IRD, Montpellier) et G. Besnard (UNIL, Lausanne). Cette étude dont le but est de mieux cerner la dynamique des populations de l'olivier de Laperrine, ne sera pas directement traitée dans ce manuscrit (Besnard *et al.*, 2007a ; **Annexe 3**).

## 2 - Matériel végétal (échantillonnage)

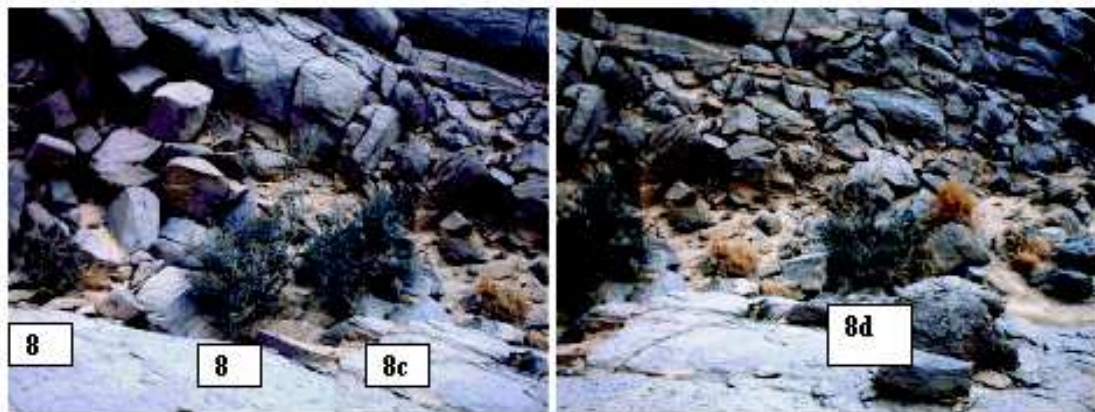
---

Plusieurs stations à oliviers ont été prospectées dans le Hoggar (111 pieds de *laperrinei*) et l'Algérois (34 pieds d'oléastre). Au Hoggar, nous avons essayé de récolter l'ensemble des pieds présents dans quatre massifs montagneux près de Tamanrasset (**fig. 34**). Cependant, certains arbres n'étant pas accessibles n'ont pu être étudiés. Chaque arbre est bien individualisé et il est multi-tronc c'est-à-dire présentant plusieurs rejets (souches). Il est à signaler que l'accent a été également mis sur les quatre rejets issus d'une même souche (superficie d'environ 20 m<sup>2</sup> ; **fig. 35**) dans la station d'Illennanen (Issekrâm, Hoggar). Le but était de vérifier l'homogénéité génétique de ces quatre pieds (nommés Illennanen 8a, 8b, 8c et 8d). Dans l'Algérois, les 34 échantillons proviennent de deux sites relativement proches (séparé d'environ 1500 m). Ces oléastres ont été échantillonnés au hasard sur un transect d'environ 100 m (chaque arbre échantillonné étant séparé d'au moins 10 m). Pour nos analyses, un jeune rameau de 10 à 15 feuilles est prélevé de chaque arbre (*laperrinei* et oléastre). Leurs feuilles sont choisies parmi celles qui ne présentent aucun symptôme de défaillance (en particulier pas de présence de champignon). Elles sont mises immédiatement dans des enveloppes avec du gel de silice pour les sécher rapidement et assurer leur bonne conservation jusqu'à l'étape de l'extraction d'ADN. Par ailleurs, les ADN de 13 échantillons provenant du Mont Belloua (Tizi Ouzou, Algérie) et de Tamanar (Essaouira, Maroc) ont également été caractérisés. Ces arbres ont été précédemment analysés à l'aide de marqueurs RAPD et de polymorphismes des ADN cytoplasmiques par Besnard *et al.* (2001 ; 2002b). Enfin, il faut rajouter à cette étude deux pieds d'olivier de Laperrine, l'un provenant de Jabbâren (Tassili) et l'autre de l'Assekrem (Hoggar). Les coordonnées géographiques de chaque population ainsi que le nombre d'individus prélevé sont présentés dans le **tableau 15**.





**Figure 34.** Localisation géographique des stations d'oliviers de *Laperrine* considérées dans l'étude. L'encadré représente la localisation des quatre massifs montagneux prospectés près de Tamanrasset (22°47'N, 5°31'E).



**Figure 35.** Rejets de souche de l'individu «Ilnanen no 8: 8a ; 8b ; 8c ; 8d» (Issekrâm, Hoggar)

Sous-espèce	Site	Altitudes	Latitude	Longitude	N <sub>R</sub>	N <sub>G</sub>
<i>laperrinei</i>	Adjelella, Algérie	1530 m	22°38 N	5°37 E	10	9
	Adrar Heggueghene <sup>a</sup> , Algérie	1390-1600 m	22°47 N	5°37 E	65	57
	Issekrâm <sup>b</sup> , Algérie	1525-1605 m	22°55 N	5°33 E	23	20
	Tanarouatine <sup>c</sup> , Algérie	1580-1600 m	23°06 N	6°03 E	13	8
	Assekrem, Algérie	~ 2700 m	23°17'N	5°37'E	1	1
	Jabbâren, Algérie	~ 1750 m	24°37'N	9°43'E	1	1
<i>europaea</i>	Gué de Constantine, Algérie	30 m	36°42 N	3°33 E	20	20
	Birkhadem, Algérie	30 m	36°42 N	3°39 E	14	14
	Mt Belloua, Algérie	790 m	36°47 N	4°04 E	7	7
	Tamanar, Essaouira, Maroc	~ 25 m	32°00 N	9°33 W	6	6

<sup>a</sup> "Adrar Heggueghene" = Stations Hadriane + In-Ezzebib + Tahâssa + In-Tounin ; <sup>b</sup> "Issekrâm" = Stations Oulet + Iernanene ; <sup>c</sup> "Tanarouatine" = Stations Tin-Aleo + Tongat.

**Tableau 15 :** Coordonnées géographiques des populations d'olivier caractérisées dans cette étude. N<sub>R</sub> correspond au nombre de pieds prospecté dans chaque site. N<sub>G</sub> représente le nombre de génotypes identifiés après caractérisation moléculaire.

## 2 - 1. Les marqueurs moléculaires utilisés

### 2 - 1 - 1. Les microsatellites (SSR) de l'ADN nucléaire

Ces marqueurs représentent un outil puissant pour étudier la structuration et la variabilité génétique au sein des taxons (**Annexe 4**). Ils sont généralement considérés neutres, ce qui leur permet de retracer correctement l'évolution des taxons (Santoni *et al.*, 2000). Ils se révèlent également très polymorphes et ont un pouvoir discriminant (identification des génotypes) très élevé par rapport à d'autres marqueurs tels que les AFLP, les RAPD ou les marqueurs des ADN cytoplasmiques (Belaj *et al.*, 2003). L'usage des microsatellites permet aussi de générer des données qui seront comparables entre laboratoires (Bandelj *et al.*, 2004). De plus, ils donnent une estimation directe de l'hétérozygotie. Chez l'olivier, leur transmission est biparentale. Enfin, leur potentielle utilisation pour caractériser les différentes sous-espèces du complexe *Olea europaea* a été démontrée (Rallo *et al.*, 2003). Ainsi, neuf loci microsatellites ont été sélectionnés à travers la bibliographie (**tableau 16**). Les amorces de ces loci sont disponibles dans les références correspondantes.

Loci	Références
DCA1, DCA3, DCA8, DCA9, DCA14, DCA15	Sefc <i>et al.</i> (2000)
GAPU45	Carriero <i>et al.</i> (2002)
PA(ATT)2	Saumitou-Laprade <i>et al.</i> (2000)
EMO03	de la Rosa <i>et al.</i> (2002)

**Tableau 16 :** Loci microsatellites sélectionnés pour la caractérisation des deux taxons d'olivier

Le choix de ces microsatellites repose sur trois critères :

1 - Les loci montrant du polymorphisme (4 à 10 allèles) chez l'olivier cultivé (i.e. Sefc *et al.*, 2000 ; Carriero *et al.*, 2002 ; de la Rosa *et al.*, 2002 ; Khadari *et al.*, 2003 ; Bandelj *et al.*, 2004) ont été sélectionnés en premier ;

2 - Seuls les loci ayant une hétérozygotie observée ( $H_O$ ) similaire à l'hétérozygotie attendue ( $H_E$ ) ont été utilisés pour éliminer les loci susceptibles de présenter des allèles nuls ;

3 - Enfin, afin de permettre leur multiplexage sur un même gel d'acrylamide, les tailles des allèles de chaque locus ont été considérées.

## 2 - 1 - 2. Les marqueurs de l'ADN chloroplastique

Chez les angiospermes, les chloroplastes sont le plus souvent transmis par la mère. Il a été démontré que ce mode de transmission est valable pour l'olivier (Besnard *et al.*, 2000). Le polymorphisme de l'ADN chloroplastique permettra donc de suivre la dissémination des graines et des lignées maternelles (Besnard *et al.*, 2002b). De plus, le génome chloroplastique présente un taux de mutation très faible (Provan *et al.*, 1999a) ce qui représente un grand avantage pour identifier des lignées sur une longue période temporelle et de connaître leurs liens historiques (itinéraires de migration, évolution et dynamique de colonisation). En particulier pour cette raison, ces marqueurs (haplotypes chloroplastiques) sont très utilisés en phylogéographie contrairement aux marqueurs nucléaires (diploïdes) qui sont plus informatifs sur l'étude du polymorphisme au sein des populations (Petit *et al.*, 2003). Dans la présente étude, vingt sites du génome chloroplastique, qui se sont avérés polymorphes dans le complexe *O. europaea* (Besnard *et al.*, 2007c), ont été explorés (**tableau 17**). Ils sont représentés par des polymorphismes d'absence/présence de site de restriction [PCR-RFLP ; onze loci, (**Annexe 5**)], et des polymorphismes de longueur (microsatellite ou insertion/délétion ; neuf loci). Les amorces de ces loci sont disponibles dans les références correspondantes.

Marqueurs	Références
ccmp5*, ccmp7*	Weising & Gardner (1999)
psbK-trnS-poly-T/A*, trnT-L-poly-T*, trnG-poly-T*, trnG-R-poly-T*, trnS-G-indel-1*, trnS-G-indel-2, trnT-L-TaqI, trnT-L-AccI, matK-RsaI, matK-TaqI, trnS-G-MseI, trnS-G-NdeI, trnG-PstI, psbK-trnS-MseI	Besnard <i>et al.</i> (2003)
trnT-L-poly-A*, matK-2-TaqI, matK-2-TaqI, matK-3-TaqI	Baali-Cherif & Besnard (2005)

\* locus présentant un motif microsatellite

**Tableau 17** : Loci utilisés pour révéler le polymorphisme de l'ADN chloroplastique

## 3 - Méthodes

### 3 - 1. Préparation de l'ADN

L'extraction d'ADN a été effectuée à l'aide de la méthode CTAB (Besnard *et al.*, 2000). Elle consiste à broyer 20 à 50 mg de feuilles sèches dans un tube « Eppendorf » de 2 ml à l'aide du broyeur Retsch MM300. Cinq µl de β-mercapto-ethanol et 800 µl de CTAB 2X sont alors ajoutés. L'ensemble est homogénéisé immédiatement au vortex puis incubé au bain-marie pendant une demi-heure à 60°C. On ajoute ensuite 800 µl de chloroforme/alcool isoamylique (24/1) et on homogénéise délicatement pour obtenir une émulsion. Une première centrifugation à 10000 t/min pendant 10 min est effectuée. Le surnageant (phase aqueuse) est transféré dans un tube neuf (1,5 ml) puis 800 µl de chloroforme/ alcool

isoamylique (24/1) sont de nouveau ajoutés. Une deuxième centrifugation à 10000 t/min pendant 10 min est effectuée. Le surnageant est récupéré dans un tube neuf et 800 µl d'isopropanol sont ajoutés pour faire précipiter l'ADN. Les tubes sont placés à □ 20°C pendant 2 h. Une troisième centrifugation à 15000 t/min pendant 10 min est effectuée. Le surnageant est éliminé et le culot est re-suspendu dans 400 µl de tampon TE 1X (environ 20 min à 50°C). On re-précipite l'ADN avec 800 µl d'alcool absolu. Les tubes sont placés 30 min à □ 50°C puis centrifugés à 15000 t/min pendant 10 min. Le surnageant est éliminé. Le culot est séché puis repris dans 200 µl de tampon TE 1X. Les solutions d'ADN sont préservées à □ 20°C.

Une fois l'ADN extrait, on procède à son dosage. Pour chaque échantillon traité, 2 µl de solution sont déposés sur un gel d'agarose 1,2%, puis l'ADN est séparé par électrophorèse (à 100 V ; dans du tampon TBE 1X) durant 10 min. La révélation de l'ADN se fait grâce à une coloration au bromure d'éthidium (BET) sous UV. La concentration d'ADN de chaque échantillon est alors estimée par comparaison de l'intensité de la bande d'ADN avec celle d'un témoin de concentration connue.

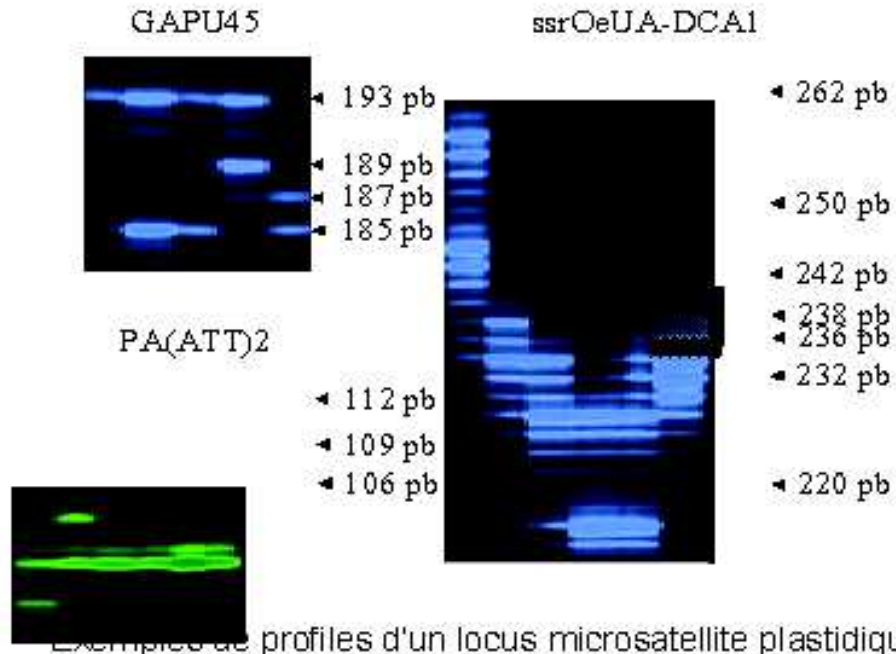
### **3 - 2. PCR (Polymerase Chain Reaction) et révélation du polymorphisme**

L'extraction de l'ADN est suivie d'une PCR. Le volume total d'une réaction est de 25 µl et contient 10 ng d'ADN, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de chaque dNTPs, 0,2 µmol de chacune des deux amorces (spécifiques au locus étudié) et 0,75 u d'ADN polymérase (Invitrogen). Pour chaque locus, l'amorce forward a été marquée avec un fluorochrome vert (FAM) ou bleu (HEX) afin de détecter les produits PCR lors de la migration sur le gel de polyacrylamide (voir étape suivante). Les mélanges réactionnels sont incubés dans un thermocycleur (T1, Biometra) pour subir la PCR.

Les conditions de cette réaction sont les suivantes : 4 min à 94°C (dénaturation), suivies de 36 cycles de 3 étapes, soient 1 min à 94°C (dénaturation), 1 min à 50 ou 55°C (selon les loci) pour l'appariement (annealing) et 1 min à 72°C (amplification). Enfin, ce programme se termine par une dernière étape de 10 min à 72°C (complétion des fragments).

Après amplification, 2 µl de produit de PCR dilués 20 fois sont mélangés à une solution composée de 1,8 µl de formamide, 0,6 µl de bleu de chargement et 0,3 µl de marqueur Genescan 500 (Applied Biosystems). L'ADN est ensuite dénaturé pendant 3 min à 95°C. Après dénaturation, 1,1 µl de solution est chargé sur un gel de polyacrylamide à 5% (préparation : voir **Annexe 6**) à base d'urée en vue d'une migration électrophorétique. Cette dernière dure 2 h et demi dans un séquenceur ABI PRISM 377. Une fois les gels scannés par le séquenceur, leurs profils (**fig. 36**) sont analysés à l'aide du logiciel Genescan 3.1.2 (Applied Biosystems) et les différents allèles observés pour tous les loci sont reportés dans un tableau de données (**Annexe 7**).

Exemples de profils de loci microsatellites nucléaires



**Figure 36.** Exemple de profils électrophorétiques de loci microsatellites nucléaires et chloroplastiques sur gel de polyacrylamide chez *laperrinei* du Hoggar

#### 4 - Traitement des données

A partir de nos données, différentes analyses ont été effectuées. Tout d'abord, nous avons estimé une distance génétique ( $d$ ) entre chaque paire d'individus. La distance SAD (« Shared Allele Distance » ; Jin & Chakraborty, 1993) a été utilisée. Celle-ci se base sur la proportion d'allèles en commun entre chaque paire d'individus ( $d = 1 - \text{proportion d'allèles en commun}$ ). A partir de la matrice de distances, les proximités génétiques entre individus ont été visualisées sur un arbre phénétique reconstruit à l'aide de l'algorithme du Neighbor-joining (Saitou & Nei, 1987). Afin de s'assurer de la validité des branches mises en évidence, un tirage aléatoire des loci avec remise (« Bootstrap ») a été effectué. Pour chaque branche, une valeur « Bootstrap » a été calculée. Celle-ci correspond au pourcentage des arbres dans lesquels on retrouve cette branche sur 1000 tirages aléatoires effectués. L'ensemble de ces analyses a été effectué à l'aide du logiciel Population v.1.2.28 (Langella, 1999).

Lorsque des pieds d'olivier présentent le même profil génétique dans une population, il est impératif d'évaluer la possibilité qu'ils correspondent à des rejets d'une même souche (= clone). La probabilité ( $P_{gen}$ ) pour qu'un zygote ait un génotype diploïde donné a été calculée selon la formule de Parks & Werth (1993) :  $P_{gen} = (\prod p_i) 2^h$  où  $p_i$  est la fréquence dans la population de chaque allèle représenté dans le génotype donné et  $h$  est le nombre de loci qui sont hétérozygotes dans la population. La valeur  $P_{gen}$  représente ainsi la probabilité que deux individus différents aient le même génotype par chance.

La richesse allélique ( $R_S$ ) a été déterminée pour chaque sous espèce étudiée selon El Mousadik & Petit (1996). Il s'agit d'une mesure du nombre d'allèles indépendamment de la taille de l'échantillon, permettant ainsi des comparaisons entre des échantillons de taille différente. L'hétérozygotie observée ( $H_O$ ) a ensuite été calculée. La diversité génétique totale exprimant les diversités génétiques intrapopulation et interpopulation a été estimée selon la méthode de Nei (1987) :  $H_T = 1 - \sum p_i^2$ , où  $p_i$  est la fréquence de l'allèle  $i$  au locus considéré.  $H_T$  est équivalent à l'hétérozygotie théorique sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg. Enfin, nous avons testé l'existence d'une différenciation génétique entre les oliviers prospectés sur les quatre massifs du Hoggar. Nous avons estimé pour cela des  $F_{ST}$  par paire de populations ( $F_{ST} = 1 - H_S / H_T$ ), où  $H_S$  est l'hétérozygotie attendue intrapopulation et  $H_T$  est l'hétérozygotie attendue totale (sur l'ensemble des données considérées ; voir **Annexe 8**). L'ensemble de ces analyses a été effectué à l'aide du logiciel Fstat (Goudet, 1995).

## 5 - Résultats et discussions

---

### 5 - 1. Les marqueurs SSR nucléaires

Les marqueurs SSR nucléaires utilisés dans notre étude montrent une très bonne transférabilité des sous-espèces *europaea* à *laperrinei* confirmant ainsi les observations de Rallo *et al.* (2003). Les neuf nucléaires SSR loci pris dans notre étude sont polymorphes pour les deux sous espèces (**tableau 18**). Ainsi le nombre total d'allèles révélés pour les deux taxons est de 85 pour l'oléastre du Maghreb (pour 47 individus) et 89 pour l'olivier de Laperrine du Hoggar (pour les 94 génotypes ; voir paragraphe suivant). La richesse allélique n'est pas significativement différente entre ces 2 taxons (test de t apparié,  $t = 0,45$ ,  $p > 0,40$ ). Toutefois, il faut noter que la richesse allélique observée au Hoggar s'est avérée significativement supérieure à celle observée dans les massifs du Niger (Besnard *et al.*, 2007a). La diversité génétique totale ( $H_T$ ) est aussi comparable pour les deux sous espèces. Elle est de 0,63 pour l'oléastre de l'Algérois et de 0,61 pour l'olivier de Laperrine du Hoggar. Seulement 31 allèles (soit 21,7%) sont communs entre les sous-espèces *laperrinei* (Hoggar) et *europaea* (Maghreb) reflétant la nette différenciation entre ces deux taxons déjà observée par Angiollilo *et al.* (1999), Besnard (1999), Hess *et al.* (2000) ou Rubio de Casas *et al.* (2006). De plus, chez toutes les populations étudiées, l'hétérozygotie observée ( $H_O$ ) est similaire à l'hétérozygotie attendue ( $H_T$ ), révélant ainsi qu'il n'y a pas un excès d'homozygotes. Sur la base de cette observation, on peut supposer que les neuf loci utilisés ne présentent pas ou très peu d'allèles nuls et ils devraient donc convenir pour des études de génétique des populations d'olivier.

Locus	<i>europaea</i>					<i>laperrinei</i>				
	Taille des allèles	$N_a$	$R_s$	$H_o$	$H_t$	Taille des allèles	$N_a$	$R_s$	$H_o$	$H_t$
ADN nucléaire										
DCA1	208-244	10 (5)	10	0,44	0,45	222-280	24 (5)	19,8	0,91	0,92
DCA3	231-255	6 (3)	6	0,52	0,45	229-253	8 (3)	7,3	0,73	0,68
DCA8	127-165	16 (5)	16	0,83	0,89	119-147	11 (5)	10,6	0,88	0,83
DCA9	167-207	16 (9)	16	0,88	0,84	169-193	11 (9)	9,5	0,58	0,63
DCA14	153-192	13 (0)	13	0,91	0,88	144-165	12 (0)	10,7	0,83	0,78
DCA15	247-271	5 (1)	5	0,59	0,61	251-258	2 (1)	2	0,20	0,19
PA(ATT)2	106-124	5 (2)	5	0,66	0,66	106-109	2 (2)	2	0,13	0,12
GAPU45	183-185	2 (1)	2	0,04	0,04	185-193	5 (1)	4,5	0,62	0,59
EMO03	212-226	12 (5)	12	0,92	0,89	195-224	14 (5)	11,9	0,84	0,79
Total	-	85 (31)	85	0,64	0,63	-	89 (31)	78,2	0,64	0,61
ADN plastidique*										
	-	5 (0)	-	-	0,67	-	4 (0)	-	-	0,19

\* basé sur la combinaison des vingt caractères sélectionnés (voir Tableau 19).

Pour  $N_a$ , le chiffre entre parenthèse représente le nombre d'allèles en commun entre les sous espèces *europaea* et *laperrinei*.

**Tableau 18 :** Taille des allèles en paire bases (pb), nombre d'allèles ( $N_a$ ) et richesse allélique ( $R_s$ ), hétérozygotie observée ( $H_o$ ), et diversité génétique totale ( $H_t$ ) pour chaque locus étudié des deux taxons (subsp. *europaea* et *laperrinei*)

## 5 - 2. Variation de l'ADN chloroplastique

L'examen des résultats consignés dans le **tableau 19** montre l'identification de quatre chlorotypes chez l'olivier de Laperrine: CL1 (no 3) : 86% ; CL2 (no 4) : 3% ; CL3 (no 5) : 9% et CL4 (no 6) : 2%. Ces haplotypes sont phylogénétiquement très proches de l'haplotype CE1 (no 1) du bassin méditerranéen (**fig. 37**) et ils appartiennent tous à la lignée E1 (Besnard *et al.*, 2007c). Ces différents haplotypes sont notamment caractérisés par une délétion spécifique de 10 paires de base au locus trn-S-G-indel-1. Ceci démontre que des populations des sous-espèces *laperrinei* et *europaea* ont une origine maternelle en commun dans un passé relativement proche (probablement au Pléistocène ; Besnard *et al.*, 2007c). De récentes investigations ont d'ailleurs suggéré que les populations d'olivier de Laperrine du Hoggar ont très probablement échangé des gènes avec des populations méditerranéennes et tropicales au Pléistocène (Besnard *et al.*, 2007c).

Les quatre haplotypes chloroplastiques révélés dans l'olivier de Laperrine sont présents dans le massif de l'Adrar Heggueghene, par contre, seulement l'haplotype CLI est trouvé dans les massifs d'Adjellala et de Tanarouatine suggérant la présence d'une plus grande diversité cytoplasmique au centre de notre zone d'étude (Issekrah et Adrar Heggueghene). Il est également intéressant de noter que le nombre d'haplotype de l'ADN chloroplastique du massif du Hoggar (e.g. quatre haplotypes) est supérieur à celui du Tassili et ceux des massifs du Niger où seulement un haplotype a été observé dans chaque massif (Besnard *et al.*, 2007a ; **Annexe 3**). Cette forte diversité (aussi observée sur l'ADN nucléaire) pourrait traduire le fait que le Hoggar est soit la zone source de l'olivier de Laperrine actuel, soit qu'il a conservé une plus grande diversité du fait de l'existence d'une plus grande population ou de facteurs climatiques plus favorables (induisant moins de renouvellement de la population, et donc moins d'érosion génétique).

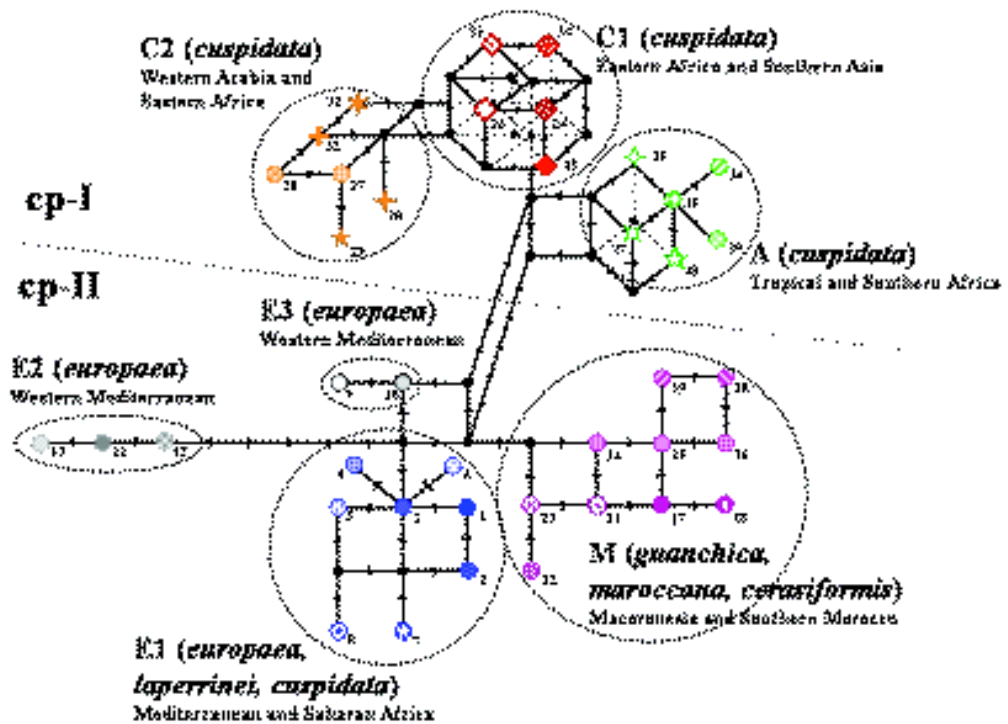
Par ailleurs, cinq haplotypes chloroplastiques ont été trouvés sur les échantillons d'oléastres: CE1 (no 1) = 4,5%, COM1 (no 11) = 13,1%, COM2 (no 12) = 65,2%, CCK (no 9) = 15,2% et CCK2 (no 10) = 2,2%. Ils appartiennent à trois lignées différentes : E1, E2 et E3

(Besnard *et al.*, 2007 ; **fig. 37**). L'haplotype CCK2 (no 10) est très similaire à CCK (no 9) et il a été détecté pour la première fois dans cette étude. Contrairement aux loci nucléaires, la diversité génétique totale ( $H_T$ ) de l'ADN chloroplastique est supérieure chez l'oléastre ( $H_T = 0,67$ ) que chez l'olivier de Laperrine ( $H_T = 0,19$ ). Ceci est du probablement aux multiples origines maternelles de l'olivier de l'Ouest du bassin méditerranéen et de l'effet de la stérilité mâle cytoplasmique « CMS » (Besnard *et al.*, 2002b ; 2007c).

Code de l'haplotype	Num. Yo de l'haplotype	Ligne phénétique	Loci																				
			comp5	comp7	trn T-L-poly-T	trn T-L-poly-A	psb K-trn S-poly-T/A	trn G-poly-T	trn G-R-poly-T	trn S-G-trnd1.1	trn S-G-trnd1.2	trn T-L-Fog I	trn T-L-Acs I	trn K-Acs I	trn K-Fog I	trn S-G-Mde I	trn S-G-Mde I	trn K-2-Fog I	trn K-2-Mde I	trn K-3-Fog I	trn G-Fog I	psb K-trn S-Mde I	
			105	120	81	106	109	87	60	105	60	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-
CE1	1	E1	105	120	81	106	109	87	60	105	60	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
CL1	3	E1	105	120	81	106	109	87	60	105	60	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
CL2	4	E1	105	120	81	106	108	87	60	105	60	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
CL3	5	E1	105	120	82	106	109	87	60	105	60	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
CL4	6	E1	104	120	81	106	109	87	60	105	60	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
CCK	9	E3	106	120	81	106	109	87	60	114	60	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
CCK2	10	E3	105	120	81	106	109	87	60	114	60	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
COM1	11	E2	104	121	81	106	108	87	60	117	52	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
COM2	12	E2	105	121	81	106	108	87	60	117	52	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-

La taille des allèles en paires bases est donnée pour les neuf premiers loci. Pour les onze restant, la présence (+) ou absence (-) du site de restriction est indiquée. (a) : Besnard *et al.* (2007c).

**Tableau 19** : Les haplotypes de l'ADN chloroplastique trouvés chez les deux taxons d'olivier (subsp. *laperrinei* du Hoggar et subsp. *europaea* de l'Algérois) par combinaison des 20 loci.



**Figure 37.** Réseau des haplotypes chloroplastiques du complexe *O. europaea* (Besnard *et al.*, 2007c) reconstruit à l'aide d'une méthode de

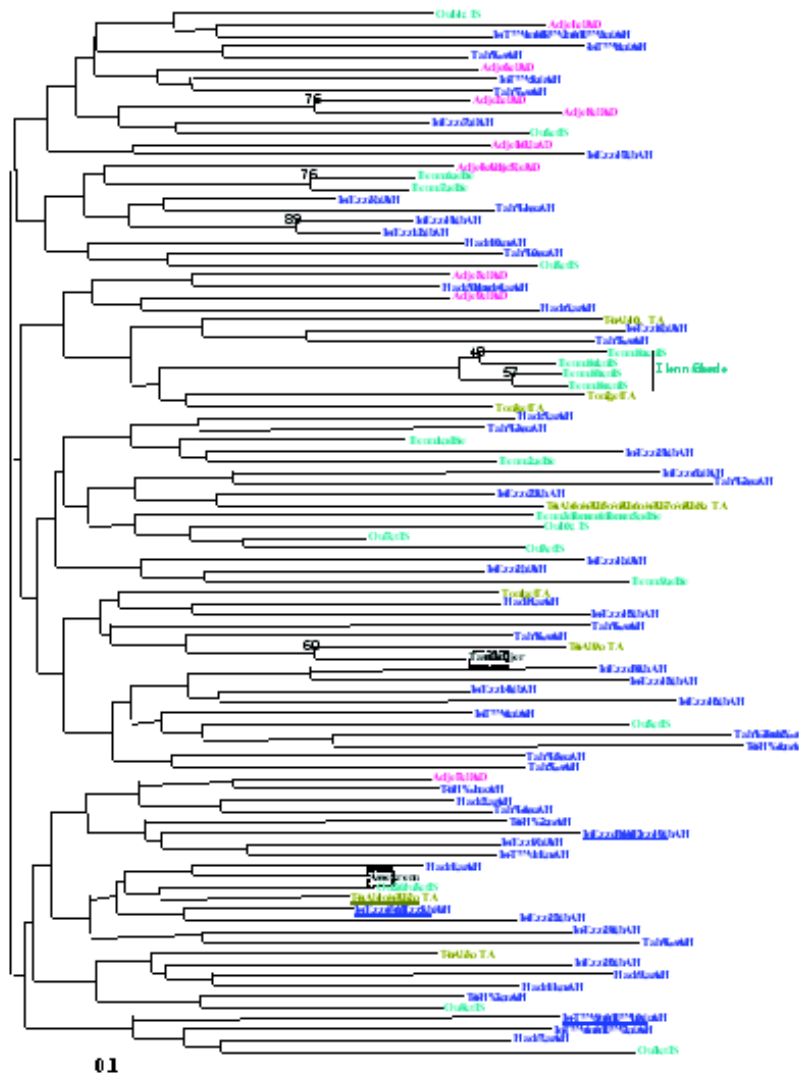


---

*parcimonie (Reduced Median Network). Chaque haplotype est numéroté (code de l'haplotype) et est spécifié par un symbole. Sept lignées sont identifiées (A, E1, E2, E3, C1, C2 et M) et regroupées en deux clades (cp-I et cp-II).*

### 5 - 3. Evidence d'une croissance clonale dans les populations d'olivier de Laperrine

Les relations génétiques entre tous les pieds d'olivier de Laperrine ont été évaluées par une approche phénétique. Dans le phénogramme, on ne remarque pas de groupes d'individus qui correspondent aux quatre massifs prospectés de la région de Tamanrasset (**fig. 38**). Cependant pour les neuf microsatellites considérés, plusieurs pieds possèdent exactement le même génotype. Ainsi sur les 111 pieds analysés, seulement 94 profils génétiques ont été distingués. Au contraire pour les populations de la sous-espèce *europaea* du Maghreb, nous avons clairement distingué tous les pieds démontrant qu'il s'agit d'individus différents. En outre, chez les populations de la sous-espèce *laperrinei*, 12 profils génétiques ont été observés sur au moins deux pieds. Pour ces 12 génotypes, la probabilité ( $P_{gen}$ ) de trouver le même profil génétique est extrêmement faible. Elle se situe entre  $2.4 \cdot 10^{-11}$  pour In-Toûnine 9/10 et  $5.7 \cdot 10^{-7}$  pour Tin-Aleo 1/2. Dans tous les cas, les pieds non distingués ont été prospectés à moins de 20 mètres l'un de l'autre. Dans cette analyse, il n'y a donc pas de doute que les pieds non distingués proviennent d'une même souche. Ceci est notamment le cas pour les pieds de Tin-Aleo (no 4 à 8) qui sont localisés sur une surface de  $80 \text{ m}^2$  environ (**fig. 39**). Ces clones proviennent de vieilles souches probablement qui existent depuis plusieurs milliers d'années. Ce phénomène de croissance clonale à partir d'une même souche a été déjà aussi observée par Besnard (1999) sur des populations d'oléastres de Syrie (Al Asharinah), d'Espagne (Torvizcon), et même de France (Mt Boron), à l'issue d'analyse de données RAPD. Toutefois, l'importance de ce phénomène est moindre par rapport aux populations d'olivier de Laperrine du Hoggar car, dans le bassin méditerranéen, il y a probablement plus de compétitions interspécifiques et le renouvellement des populations est plus important du fait de relativement fréquents feux de forêts.



**Figure 38.** Arbre phénétique montrant les similitudes génétiques entre les pieds de la sous espèce *laperrinei*, issu de l'analyse des neuf loci nucléaires. Les distances génétiques entre individus sont estimées par le pourcentage d'allèles en commun (« shared allele distances » ; Jin & Chakraborty, 1993) et l'arbre phénétique est reconstruit à l'aide de l'algorithme du Neighbor joining (Saitou & Nei, 1987). Les valeurs de bootstrap supérieures à 40% sont indiquées dans chaque branche correspondante. Les clones sont soulignés et correspondent aux génotypes révélés dans plusieurs pieds. Pour chaque génotype une couleur spécifique est donnée pour distinguer les populations de *laperrinei* selon les quatremassifs prospectés : Adjellela (rose), Adrar Heggueghene (bleu), Tanaroutatine (jaune) et Issekrâm (vert). Les 2 individus du Tassili n'Adjjer et de l'Assekrem sont indiqués en encadré.



**Figure 39.** Individus d'olivier de Laperrinede l'Oued de Ti-n-Aleo du massif de Tanarouatine (Hoggar). Les pieds sont numérotés de 1 à 8. La caractérisation moléculaire (ADN nucléaire) a distingué seulement trois génotypes : T-in-Aleo 1-2, T-in-Aleo 3 et T-in-Aleo 4-5-6-7-8.

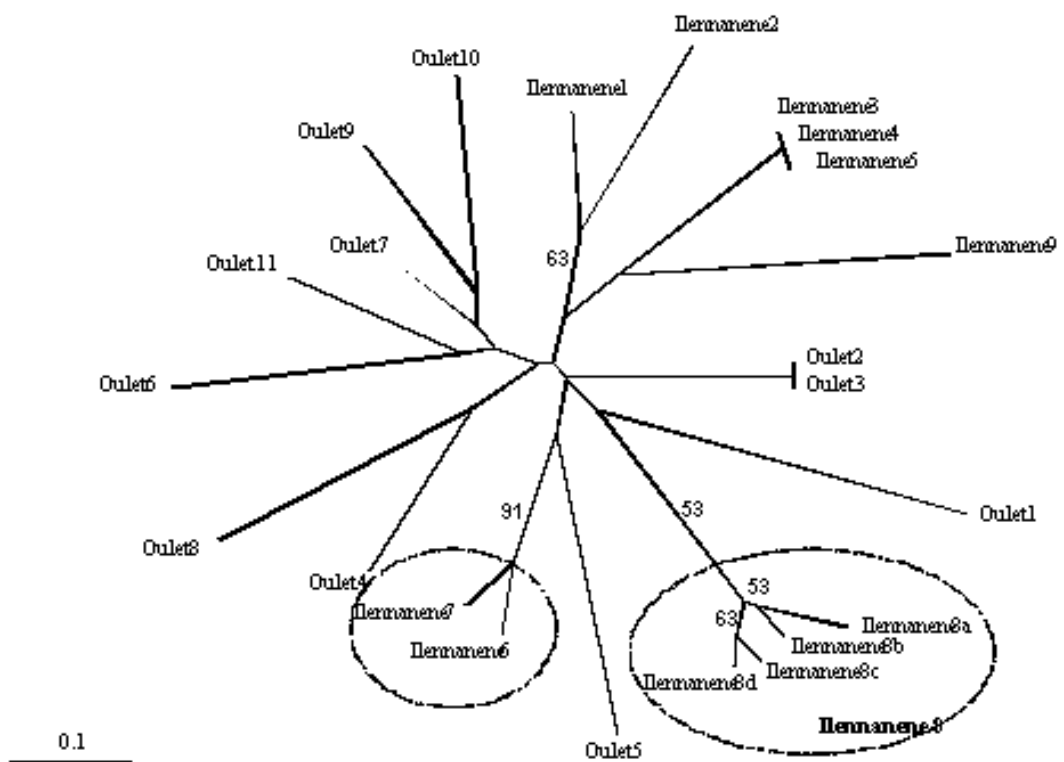
Chez les populations de l'Adrar Heggueghene, les trois pieds du clone In-Tounin 1, 2 et 3 montrent trois allèles au locus DCA1 (allèles 236-240-244). Ce type de résultat est trouvé seulement pour ce clone (triploïde). Des résultats semblables ont été trouvés sur d'autres espèces que sont multipliés par la voie végétative comme la vigne (Franks *et al.*, 2002 ; Riaz *et al.*, 2002). Cette présence de trois allèles est supposée due à des mutations somatiques et le chimérisme (mélange de cellules avec ou non la mutation) est maintenu pendant le développement de l'individu (e.g. Franks *et al.*, 2002 ; Rodriguez Lopez *et al.*, 2004). Un autre fait intéressant est montré par les quatre pieds d'Ilenanen no 8 qui sont issus de la même souche (**fig. 35**). Ces pieds sont morphologiquement identiques mais génétiquement différents (**fig. 38** et **fig. 40**). Chaque pied peut être en effet différencié de l'autre à partir de trois loci (**tableau 20**).

Locus	Génotypes (taille des allèles en pb)
DCA1	240-272, 240-274 et 240-276
DCA14	<b>151-156</b> et <b>152-156</b>
DCA9	181- <b>189</b> et 181- <b>193</b>

**Tableau 20 :** Génotypes des trois loci différenciant les quatre pieds d'Ilenanen no 8. Les allèles de taille variable sont en gras (voir aussi **Annexe 7**)

Ces observations démontrent donc que les mutations peuvent s'accumuler dans des pieds distincts provenant d'une même souche. Ce phénomène avait déjà été constaté chez l'olivier cultivé qui est produit par reproduction végétative depuis de longues périodes (Lopes

et al., 2004). On sait que l'excès de broutement par le bétail peut induire l'émergence de mutations en favorisant la croissance axillaire (Marcotrigiano, 2000). Ainsi, dans le cas de l'olivier de Laperrine, on peut penser que l'environnement hostile et le grand âge des souches expliquent cette relativement haute fréquence de mutations somatiques. En outre, il est probable que d'autres pieds issus de la même souche sont génétiquement différents à cause des mutations qui se sont accumulés dans le temps. Parmi les pieds prospectés à une relativement faible distance, seulement ceux d'Ilnanen 6 et 7 montrent une proximité génétique forte comme illustrée par la **figure 40**. Ces pieds ont été échantillonnés dans un espace de 3 m et sont seulement différenciés par les allèles du locus DCA1 (génotypes 246-270 et 240-272). Le locus DCA1, étant exclu, la probabilité d'obtenir le même profil génétique pour les huit autres loci est très faible ( $P_{gen} = 7,4 \cdot 10^{-5}$ ). En conséquence, il est fortement suspecté que ces deux pieds soient originaires de la même souche.



**Figure 40.** Arbre phénétique montrant les similitudes génétiques entre les pieds de *laperrinei* de l'Issekrâm (Hoggar) issu de l'analyse des neuf loci nucléaires. Les distances génétiques entre individus sont estimées par le pourcentage d'allèles en commun (« Shared Allele Distances » ; Jin & Chakraborty, 1993) et l'arbre phénétique est reconstruit à l'aide de l'algorithme du Neighbor joining (Saitou & Nei, 1987). Les valeurs de « bootstrap » supérieures à 50% sont indiquées dans chaque branche correspondante. Les deux clones d'Oulet 2-3 et Ilnanen 3-4-5 montrent respectivement deux et trois pieds. Les regroupements de pieds encerclés correspondent aux deux groupes de pieds génétiquement très similaires et qui sont seulement différenciés par des allèles de taille très similaires (très probablement résultant de mutation) sur un ou deux loci. Le reste des pieds étant clairement distingués.

#### 5 - 4. Test d'une différenciation génétique entre les quatre massifs de la région de Tamanrasset

Pour les analyses de génétiques des populations (calcul des  $F_{ST}$ ), un seul pied par clone était considéré. Par ailleurs, parmi les 94 génotypes différents, nous avons exclu arbitrairement les pieds Ilennanene 8a, 8b, 8c et 7 afin de ne pas considérer plusieurs fois le même individu. Sur ces 90 génotypes restants, nous avons testé l'existence d'une différenciation génétique entre les quatre massifs prospectés à l'aide des  $F_{ST}$  par paire (**tableau 21**). Aucune comparaison ne s'est avéré être significative que ce soit sur les loci nucléaires ou chloroplastiques. Par contre des différences significatives étaient obtenues entre les populations d'oléastres et en particulier sur les marqueurs chloroplastiques et même sur de relativement courtes distances géographiques (entre Birkhadem et Mont Belloua ; environ 70 km ; Tableau 21). Ces différences résultent probablement d'une histoire complexe de l'olivier en Méditerranée comme l'existence de plusieurs origines aujourd'hui plus ou moins mélangés au Maghreb (Besnard *et al.*, 2002b ; 2007c).

**- Données SSR nucléaires (neuf loci):**

<i>europaea</i>				<i>laperrinei</i>			
	BK	GC	MB		AD	AH	IS
GC	0,019 <sup>ns</sup>			AH	0,006 <sup>ns</sup>		
MB	0,063*	0,026 <sup>ns</sup>		IS	0,005 <sup>ns</sup>	0,011 <sup>ns</sup>	
TR	0,059 <sup>ns</sup>	0,056 <sup>ns</sup>	0,085*	TA	0,010 <sup>ns</sup>	0,009 <sup>ns</sup>	0,006 <sup>ns</sup>

**- ADN chloroplastique (quatre haplotypes):**

<i>europaea</i>				<i>laperrinei</i>			
	BK	GC	MB		AD	AH	IS
GC	0,000 <sup>ns</sup>			AH	0,003 <sup>ns</sup>		
MB	0,795**	0,719**		IS	0,132 <sup>ns</sup>	0,031 <sup>ns</sup>	
TR	0,894**	0,785**	0,805*	TA	0,000 <sup>ns</sup>	0,000 <sup>ns</sup>	0,119 <sup>ns</sup>

Signification de chaque valeur du  $F_{ST}$ : <sup>ns</sup> non significatif, \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$

BK : Birkhadem ; GC : Gué de Constantine ; MB : Mont Belloua ; TR : Tamanar ; AD : Adjellela ; IS : Issekrâm ; TA : Tanarouatine ; AH : Adrar Heggueghene.

**Tableau 21** : Différenciations génétiques ( $F_{ST}$ ) entre paires de populations évaluées sur la base des données SSR nucléaire et des haplotypes de l'ADN chloroplastique. Cette analyse a été faite indépendamment dans les populations de l'Ouest de la Méditerranée (subsp. *europaea*) et du Hoggar (subsp. *laperrinei*).

## 6 - Conclusion

En résumé, sur les 90 génotypes observés du Hoggar, 16% (14) ont montré au moins deux pieds distincts, démontrant l'existence d'une croissance clonale dans les populations d'olivier de Laperrine. Seulement quatre individus ont montré un nombre de pieds supérieur à 2 (de 3 à 5), le nombre moyen de pieds par individu étant égal à 1,23. Pour comparaison, au Niger, 40% des génotypes ont été détectés sur plusieurs pieds distincts au Bagzane contre seulement 13% au Tamgak (Anthelme *et al.*, 2008). L'utilisation de la croissance clonale semble donc très fréquente au Bagzane ou l'olivier de Laperrine est sérieusement menacé (il y aurait actuellement moins de 50 génotypes dans ce massif ; Anthelme *et al.*, 2008). Le mode de reproduction végétative à partir de la souche assure une longue survie aux individus d'olivier de Laperrine. Cette capacité à se maintenir sur une longue période

explique probablement que cet olivier a pu maintenir une diversité génétique relativement élevée même dans des populations extrêmement réduites. En effet, on peut penser que la reproduction sexuée dans des populations d'olivier réduites à quelques individus et à fort renouvellement induirait une très forte érosion génétique aboutissant inévitablement à leur extinction (Honnay & Bossuyt, 2005). Il reste à déterminer si l'olivier de Laperrine a pu se multiplier par la voie sexuée durant la dernière transition humide sur le Sahara, il y a environ 3000 à 3500 années. Du fait de la croissance clonale, la persistance de ce taxon ne devrait pas être trop affectée par l'érosion génétique (consanguinité) mais devrait surtout dépendre des facteurs climatique (extrême sécheresse) et environnementale (pressions anthropiques) qui l'affectent. Des événements d'extinction se sont déjà produits dans un passé relativement récent (depuis le Pléistocène) et notamment dans le massif du Tibesti au Tchad (Wickens, 1976 ; Quézel, 1978).

Le meilleur moyen de préserver l'olivier de Laperrine de l'extinction serait bien sûr de le multiplier. Deux modes de multiplication sont envisageables, la voie sexuée ou la multiplication végétative. Le bouturage semble une option intéressante car elle offre l'avantage de ne pas perdre les qualités génétiques (adaptation locale) des individus, et en même temps elle est relativement facile à mettre en œuvre contrairement à la voie par semis (qui nécessite la possibilité de récolter des graines). Par ailleurs, la collecte de graines pour reconstituer des populations présente le désavantage qu'en général très peu d'individus fleurissent chaque année. En conséquence, peu d'individus seraient impliqués dans la reproduction sexuée et la constitution d'une banque de graines à partir de quelques individus pourrait ne pas refléter la grande diversité génétique de ce taxon. Les données génétiques devraient donc être utiles pour maximiser la diversité génétique dans ces banques de graines. Enfin, avant de commencer un programme de conservation, il reste primordial de sensibiliser les populations humaines locales aux problèmes d'environnement afin de pouvoir efficacement renforcer ou de mettre en place de nouvelles populations d'olivier de Laperrine.

---

# Conclusion générale et perspective

Notre étude a permis d'accumuler de nouvelles connaissances sur les populations d'olivier de Laperrine (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*) présentes dans le Sahara central (Hoggar et Tassili) en Algérie.

L'étude biogéographique a montré que les effectifs de ces populations, bien que sous-estimés dans les études antérieures, s'avèrent toujours relativement faibles (environ 2 à 3 milliers d'arbres). Il est montré que ce taxon peut se maintenir sur de très longues périodes (probablement plusieurs millénaires) grâce notamment à sa capacité à rejeter de sa souche. Cette stratégie végétative a très probablement permis à ce taxon de réduire l'érosion génétique qui s'accompagnerait lors d'un renouvellement des populations par voie sexuée. En effet, étant donné le très faible nombre d'individus capables de se reproduire, un rapide « turn-over » des populations devrait s'accompagner rapidement d'une forte érosion génétique menant irrémédiablement à la disparition du taxon.

Concernant l'étude des aspects biologiques, les descripteurs morphologiques pris pour différencier les deux taxons (*O. e. laperrinei* et *O. e. europaea*), notamment ceux de la feuille (forme, taille et aspect de la nervure centrale), du pollen (diamètre, épaisseur de l'exine et taille des verrues) et des inflorescences (taille et nombre des fleurs), ont montré avec suffisamment de précision que les deux sous-espèces sont bien distinctes. La caractérisation moléculaire a également montré sans ambiguïté que l'olivier de Laperrine est génétiquement différent de l'olivier méditerranéen, confirmant la pertinence et l'utilité des caractères morphologiques dans la distinction des deux taxons. Dans l'étude de génétique des populations effectuée sur les massifs du sud de l'Algérie et du nord du Niger (Besnard *et al.*, 2007a ; **Annexe 3**), il est apparu que les populations du Hoggar présentent une très forte diversité génétique comparées aux populations du Tassili et du Niger (Tangak et Bagzane). Une forte différenciation génétique entre les arbres de ces différents massifs montagneux a été également mise en évidence. Les barrières désertiques ont donc joué un grand rôle dans la dissémination des gènes entre ces montagnes. D'après cette étude, le massif du Hoggar pourrait être la région d'origine de l'olivier de Laperrine (Wickens, 1976 ; Besnard *et al.*, 2007a) et devrait donc faire l'objet d'une grande attention dans les futurs programmes de conservation de ce taxon. Toutefois, les populations du Niger ne devront pas être négligées du fait de leur forte différenciation génétique et de leur probable haute adaptation aux conditions locales (qui sont différentes de celles du Hoggar).

L'objectif final de notre étude est bien sûr de proposer des stratégies de préservation des populations d'olivier de Laperrine. La première étape est d'établir une cartographie la plus fine possible des populations actuelles et ceci a été largement entrepris dans le présent travail. La caractérisation moléculaire de ces arbres sera utile pour bien connaître l'organisation de la diversité au sein des populations et devrait ainsi permettre une meilleure préservation du patrimoine génétique de ce taxon. Plusieurs stratégies de conservation devront être mises en œuvre. La mise en place de collections *ex-situ* est une première nécessité. Le bouturage d'arbres extrêmement anciens peut être proposé pour conserver des individus hautement adaptés localement ; travail déjà entrepris dans la station de l'INRF de Tamanrasset (**Annexe 9**). Par ailleurs, en vue de multiplier le taxon à grande échelle, nous avons aussi émis l'hypothèse que la voie sexuée serait à utiliser (multiplication par

graines). Des études sont toutefois en cours (analyses de paternité sur des lots de graines récoltés en 2007) pour mesurer l'impact d'une telle pratique sur la diversité génétique. Selon les résultats obtenus, un protocole devrait être proposé afin de minimiser l'érosion génétique. La multiplication de cet arbre par semis et par multiplication végétative ouvrira de nouvelles perspectives en termes de conservation de cet arbre. Le renforcement de certaines populations pourrait à terme être envisagé.

Enfin, cette étude sur la conservation de l'olivier de Laperrine est l'une des premières à être consacrée à une espèce ligneuse des massifs sahariens (voire aussi notamment les travaux sur le Cyprès du Tassili ; Abdoun & Beddiaf, 2002 ; Abdoun *et al.*, 2005). L'approche génétique que nous avons utilisée dans ce travail est tout à fait originale. Notre étude visant à une meilleure compréhension de la dynamique des populations sera primordiale pour établir des stratégies de conservation. On peut estimer que notre travail aura donc aussi un impact important pour la conservation d'autres espèces ligneuses du Sahara central et peut être considéré comme une étude « pilote ». L'étude d'autres taxa (e.g. Acacias, Ficus, Balanites, Pistachier...) est en cours dans notre laboratoire et pourra s'inspirer des acquis de notre travail.



---

# BIBLIOGRAPHIE

- Abdelkrim H. 1992.** Un joyau floristique : l'Oued Idikel, Oued à *Pistacia atlantica* (1) et *Myrtus nivellei* dans le Hoggar (2). *Documents Phytosociologiques, Camerino* **14**: 211-218.
- Abdoun F, Beddiaf M. 2002.** *Cupressus dupreziana* A. Camus: répartition, dépérissement et régénération au Tassili n'Ajjer, Sahara central. *C. R. Biol.* **325**: 617-627.
- Abdoun F, Jull AJT, Guibal F, Thinon M. 2005.** Radial growth of the Sahara's oldest trees: *Cupressus dupreziana* A. Camus. *Trees Struct. Funct.* **19**: 661-670.
- Angiolillo, A., Mencuccini, M., Baldoni, L. 1999.** Olive genetic diversity assessed using amplified fragment length polymorphisms. *Theor. Appl. Genet.* **98**: 411-421.
- Altamura MM, Altamura L, Mazzolani G. 1982.** Elements for revision of the genus *Olea* (Tourn.) L. VI. The taxons present in Oceania which can be ascribed to *Olea* and allied genera. *Ann. Bot. (Roma)* **43**: 45-52.
- Anthelme F, Abdoukader A, Besnard G. 2008.** Distribution, shape and clonal growth of the rare endemic tree *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Oleaceae) in the Saharan mountains of Niger. *Plant Ecol.*, DOI 10. 1007/s11258-007-9386-6.
- Andrews FW. 1952.** The flowering plants of the Anglo Egyptian Sudan. Vol. II, t. Buncl. And Co., LTD, Arbroth Scotland, 175 p.
- Baali-Cherif D, Meghaoui A, Zemit O, Sahki A, Kara-Mostefa KL, Bouguedoura N. 2002.** Etude de quelques aspects biologiques de l'olivier de Laperrine (*Olea laperrinei*) en vue de la mise en place d'une banque *ex situ*. Séminaire de Djanet 27 au 29 octobre 2002 « Redécouvrir et réinventer une sylviculture en zones arides », p. 82-89.
- Baali-Cherif D, Besnard G. 2005.** High genetic diversity and clonal growth in relict populations of *Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Oleaceae) from Hoggar, Algeria. *Ann. Bot. (Lond.)* **96**: 823-830.
- Baali-Cherif D, Bouguedoura N, Besnard G, Bouhired L. 2006.** L'olivier de Laperrine [*Olea europaea* subsp. *laperrinei* (Oleaceae)], sous espèce à avenir incertain. Séminaire, INA El-Harrach, 28 et 29 Mai 2006 " Les espèces animales et végétales menacées d'extinction".
- Baldoni L, Guerrero C, Sossey-Alaoui K, Abbott AG, Angiolillo A, Lumaret R. 2002.** Phylogenetic relationships among *Olea* species based in nucleotide variation at a non-coding chloroplast DNA region. *Plant Biol.* **4**: 346-351.
- Ballouche A, Reille M, Thinon, M, Barakat HN, Fontugne M. 1995.** La végétation holocène des montagnes du Sahara central : une nouvelle conception. *In: 2<sup>e</sup> Symp. Palyn. Afric., Publ. Occas. CIFEG 1995/3, Tervuren, S.* 9-17.

- Bandelj D, Jakše J, Javornik B. 2004.** Assessment of genetic variability of olive varieties by microsatellite and AFLP markers. *Euphytica* **136**: 93-102.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A. 1999.** Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* **16**: 37-48.
- Barry JP, Celles JC. 1972-1973.** Le problème des divisions bioclimatiques et floristiques au Sahara algérien. *Naturalia Monspeliensia, Série Bot. Fasc.* **23-24**: 5-48.
- Barry JP, Riser J. 1988.** Relations entre les bioclimats et la distribution de la végétation au centre et au Nord – Ouest du Sahara. *In*: Di Castri, F.; Floret, Ch.; Rambal, S. & Roy, J. (Eds.), IUBS, Paris.
- Barry JP, Celles JC, Manière R. 1976. Le problème des divisions bioclimatiques et floristiques au Sahara algérien. Naturalia Monspeliensia, Série Bot. Fasc.* **26**: 211-242.
- Battaglia E, Breviglieri N. 1955.** Microsporogensi regolare ed irregolare in *Olea europaea* L. *Caryologia* **8**: 45-68.
- Battandier JA, Trabut C. 1911.** Plantes du pays des Touaregs. *Bull. Soc. Bot. Fr.* **58**: 623-629.
- Belaj A, Satovic Z, Cipriani G, Baldoni L, Testolin R, Rallo L, Trujillo I. 2003.** [Comparative study of the discriminating capacity of RAPD, AFLP and SSR markers and of their effectiveness in establishing genetic relationships in olive](#) . *Theor. Appl. Genet.* **107**: 736-744.
- Benarar D, Bouguedoura N. 2003.** Essai de germination de l'olivier de Laperrine (*Olea laperrinei* Batt. et Trab.). *La Forêt Algérienne* **5**: 15-18.
- Benhouhou S, Boucheneb N, Kerzabi Q, Sassi O. 2003.** Plant communities of several wadi types in the Tassili N'Ajjer, Central Sahara, Algeria. *Phytocoenologia* **33** (1), Berlin-Stuttgart, 49-69.
- Benhouhou S, Boucheneb N, Sahli F, Yaou Amadou I. 2005.** Le cyprès de Tassili : caractérisation floristique et écologique. *Sécheresse* **16**: 61-66.
- Benichou A. 1962.** Recherche critique sur l'olivier de Laperrine (histoanatomie). Bulletin n°6 de l'IRS, Université d'Alger.
- Besnard G. 1999.** Etude de la diversité génétique de l'olivier cultivé et de ses formes sauvages apparentées à l'aide de marqueurs moléculaires : applications pour l'identification variétale et pour la gestion des ressources génétiques. Thesis, Université Montpellier II, 174 p.
- Besnard G, Khadari B, Villemur P, Bervillé A. 2000.** Cytoplasmic male sterility in the olive (*Olea europaea* L.). *Theor. Appl. Genet.* **100**: 1018-1024.
- Besnard G, Baradat P, Chevalier D, Tagmount A, Bervillé A. 2001.** Genetic differentiation in the olive complex (*Olea europaea*) revealed by RAPDs and RFLPs in the rRNA genes. *Genet. Resour. Crop Evol.* **48**: 165-182.
- Besnard G, Bervillé A. 2002.** On chloroplast DNA variations in the olive (*Olea europaea* L.) complex: comparison of RFLP and PCR polymorphisms. *Theor. Appl. Genet.* **104**: 1157-1163.

- Besnard G, Green PS, Bervillé A. 2002a.** The genus *Olea*: molecular approaches of its structure and relationships to other *Oleaceae*. *Acta Bot. Gallica* **149**: 49-66.
- Besnard G, Khadari B, Baradat P, Bervillé A. 2002b.** *Olea europaea* (*Oleaceae*) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. *Theor. Appl. Genet.* **104**: 1353-1361.
- Besnard G, Rubio de Casas R, Vargas P. 2003.** A set of primers for length and nucleotide-substitution polymorphism in chloroplastic DNA of *Olea europaea* L. (*Oleaceae*). *Mol. Ecol. Notes* **3**: 651-653.
- Besnard G, Christin PA, Baali-Cherif D, Bouguedoura N, Anthelme F. 2007a.** Spatial genetic structure in the Laperrine's olive (*Olea europaea* subsp. *laperrinei*), a long-living tree from central-Saharan Mountains. *Heredity*, **99** : 649-657.
- Besnard G, Henry P, Wille L, Cooke D and Chapuis E. 2007b.** On the origin of the invasive olives (*Olea europaea* L., *Oleaceae*). *Heredity*, **99** : 608-619.
- Besnard G, Garcia-Verdugo C, Rubio de Casas R, Treier UA, Galland N, Vargas P. 2008.** Polyploidy in the olive complex (*Olea europaea* L.): evidence from flow cytometry and nuclear microsatellite analyses. *Ann. Bot. (Lond.)*, 101: doi: 10.1093/aob/mcm 275.
- Besnard G, Rubio de Casas R, Vargas P. 2007c.** Plastid and nuclear DNA polymorphism reveals historical processes of isolation and reticulation in the olive tree complex (*Olea europaea* L.). *J. Biogeogr.* **34**: 736-752.
- Blanguernon C. 1976.** Le Hoggar. 3<sup>ème</sup> édit. Ed. Arthaud. Paris. 267 p.
- Bonnet-Masimbert M 1975.** La germination des graines de *Pinus pinaster*. I: mise en évidence du rôle de la lumière. *Ann. Sci. Forest.* **32** (2): 93-112.
- Boucheneb N. 1999.** Premières données sur l'étude de la végétation de la région de Tamanrasset (Ahaggar). *Ann. Rech. Forest. Algérie* **2**: 3-22.
- Bousquet B. 1987.** Parc national du Tassili N'Ajjer: conservation et valorisation. MAB, UNESCO, Paris, 206 p.
- Briggs BG. 1970.** Some chromosome numbers in the *Oleaceae*. *Contr. N. S. W. Natl. Herb.* **4**: 126-129.
- Brunneau de Miré P, Gillet A. 1956.** Contribution à l'étude de la flore du massif de l'Aïr. *J. Agr. Trop. Bot. Appl.* t. III, n° 512.
- Brunneau de Miré P. 1960.** Note préliminaire sur l'étage culminant du Djebel Mara (Republic of Sudan) et ses affinités avec les hauts sommets du Tibesti. *C. R. Som. Séances Soc. Biogéog.* n° **320, 321** et **322**.
- Carriero F, Fontanazza G, Cellini F, Giorio G. 2002.** Identification of simple sequence repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea* L.). *Theor. Appl. Genet.* **104**: 301-307.
- Chenoune K. 2005.** La flore et la végétation du Hoggar. *Bois et Forêts des Tropiques*, **284**: 79-84.
- Chevalier A. 1948.** L'origine de l'olivier cultivé et ses variations. *Rev. Int. Bota. App. Agric. Trop.* **28**: 1-25.
- Ciferri R. 1941.** Il genere *Olea* e l'origine dell' *Olea europaea*. *L'Olivicoltura* XVIII. n° 8, 1-6.

- Ciferri R, Breviglieri N. 1942.** Introduzione ad una classificazione morfo-ecologica dell'ollivo coltivato in Italia. *Revista l'Olivocoltore*, Anno XIX, n° 1.
- Côme D 1970.** Les obstacles à la germination. Ed. Masson et Cie. Paris. 162 p.
- Coutance A. 1877.** L'olivier (histoire, botanique, culture, produits, usages, commerce, industries, etc.). J. Rothschild Edit., Paris, 456 p.
- Cantini C, Cimato A, Graziano S 1999.** Morphological evaluation of olive germplasm present in Tuscany region. *Euphytica* **109**: 173-181.
- de Foucauld Ch. 1952.** Dictionnaire Touareg – Français: dialecte de l'Ahaggar. Tome I. Imp. Nat. France. pp. 98.
- de Candolle A. 1844.** *Prodomus systematis naturalis regni vegetabilis*. Sumptibus Fortin, Masson et Sociorum, Paris, pp 283-289.
- de la Rosa R, James CM, Tobutt KR. 2002.** Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in olive (*Olea europaea* L.) and their transferability to other genera in the Oleaceae. *Mol. Ecol. Notes* **2**: 265-267.
- de Saint-Laurent J. 1932.** Etudes sur les caractères anatomiques du bois et du liber secondaire dans les essences du Sahara et particulièrement du Hoggar. *Bull. Stat. Rech. Forest. Nord Afr.* 1<sup>er</sup> Fascicule, t. II, 60 p.
- Despois J, Raynal R. 1975.** Géographie de l'Afrique du Nord-Ouest. Ed. Payot. Paris. pp. 419-510.
- Douady CJ, Catzeflis F, Raman J, Springer MS, Stanhope MJ. 2003.** The Sahara as a vicariant agent, and the role of Miocene climatic events, in the diversification of the mammalian order Macroscelidea (elephant shrews). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**: 8325-8330.
- Dubief J. 1959.** Le climat du Sahara. Tome 1, Mémoire hors série, *Inst. Rech. Sahar.*, Univ. Alger, 312 p.
- Dubost D. 1992.** Aridité, agriculture et développement : le cas des oasis algériennes. *Sécheresse* **3**: 85-96.
- Durand JH. 1954.** Les sols d'Algérie. Gouv. Génér. Algérie. SES. Pédologie n°2. Alger. pp. 65-76.
- Duveyrier D. 1864.** Les Touaregs du Nord, Challamel Edit., Paris.
- El Mousadik A, Petit RJ. 1996.** High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. *Theor. Appl. Genet.* **92**: 832-839.
- Fabre J. 1976.** Introduction à la géologie du Sahara algérien et des régions voisines. I: la couverture phanérozoïque. Ed. SNED, Alger, 422 p.
- Franks T, Botta R, Thomas MR, Franks J. 2002.** Chimerism in grapevines: implications for cultivar identity, ancestry and genetic improvement. *Theor. Appl. Genet.* **104**: 192-199.
- Furon R. ca 1967.** Géologie de l'Afrique. 3<sup>ème</sup> édition. Ed. Payot, Paris, pp. 73-105.
- Garcia-D#az A, Oya R, Sánchez A, Luque F. 2003.** Effect of prolonged vegetative reproduction of olive tree cultivars (*Olea europaea* L.) in mitochondrial homoplasmy and heteroplasmy. *Genome* **46**: 377-381.

- Gribi A, Saï N, Younsi N. 1992.** Notice explicative de la carte hydrogéologique du Hoggar et des Tassilis à 1 / 1000000. Projet PNUD / ALG / 021 ANRH. Minist. Equipement. Alger. 53 p. + 1 carte couleur h.t.
- Goudet J. 1995.** Fstat (version 1.2): a computer programme to calculate *F*-statistics. *J. Hered.* **86**: 485–486.
- Green PS, Wickens GE. 1989.** The *Olea europaea* complex. The Davis & Hedge Festschrift, Ed. K., Edimburg University press, pp 287-299.
- Green PS. 2002.** A revision of *Olea* L. (*Oleaceae*). *Kew Bull.* **57**: 91-140.
- Hadje MS. 1991.** Des arbres pour la protection des terres : le cas d'un boisement pour lutter contre la désertification en Mauritanie. FAO, Afrique, pp. 59-80.
- Halem MSL. 1990.** Contribution à l'étude de la végétation de deux Oueds de la Tefedest : Mertoutek et Dehine dans le parc national de l'Ahaggar. *Mém. Ing. Agro. Inst. Nat. Agro. Alger*, 72 p.
- Harfouche A. 1996.** La gestion des ressources génétiques forestières en Algérie. *La Forêt Algérienne* **2**: 5-12.
- Hartman HT, Panetsos C. 1962.** Effet de la déficience de l'humidité du sol pendant la floraison et la fructification de l'olivier. *Informations Oliécoles Internationales* **19**: 45-55.
- Hauville A. 1953.** La répartition de l'olivier en Algérie et ses conséquences pratiques. *Bull. Soc. Agric. Algérie*, n° 580, 8 p.
- Hess J, Kadereit JW, Vargas P. 2000.** The colonization history of *Olea europaea* L. in Macaronesia based on internal transcribed spacer 1 (ITS-1) sequences, randomly amplified polymorphic DNAs (RAPD), and inter simple sequence repeats (ISSR). *Mol. Ecol.* **9**: 857-868.
- Honnay O, Bossuyt B. 2005.** Prolonged clonal growth: escape route or route to extinction? *Oikos* **108**: 427-432.
- Idrissi A, Ouazzani N. 2003.** Apport des descripteurs morphologiques à l'inventaire et à l'identification des variétés d'olivier (*Olea europaea* L.). *Plant Genet. Resourc. Newslett.* **136**: 1-10.
- Jahandiez E Maire R, 1934.** Catalogue des plantes du Maroc (1931 à 1934). 3 vol., *Trav. Inst. Rech. Sah. Alger*
- Jin L, Chakraborty R. 1993.** Estimation of genetic distance and coefficient of gene diversity from single-probe multilocus DNA fingerprinting data . *Mol. Biol. Evol.* **11**: 120-127.
- Johnson LAS. 1957.** A review of family *Oleaceae*. *Contr. N. S. W. Natl. Herb.* **2**: 397-418.
- Kerzabi Q 1995.** Contribution à l'étude de la végétation de quelques Oueds du Sud du Tassili n'Ajjer. *Mém. Ing. Agron.*, INA El-Harrach (Alger), 125 p.
- Khadari B, Breton C, Moutier N, Roger JP, Besnard G, Bervillé A, Dosba F. 2003.** The use of molecular markers for germplasm management in a French olive collection. *Theor Appl. Genet.* **106**: 521-529.

- Kilian C. 1945.** Expédition 1943, l'Aïr et le Ténéré. *Trav. Inst. Rech. Sah.* t. III, 73-86.
- Langella O. 1999.** Populations 1.2.28 software. <http://www.pge.cnrs-gif.fr/bioinfo/populations>
- Leberre M, Bouvet V 1985.** Ecologie des gueltas du Tassili N'Ajjer. MAB/UNESCO, Paris, 45p ;
- Le Houérou HN. 1968.** La désertisation du Sahara septentrional et des steppes limitrophes (Libye – Tunisie – Algérie). *Ann. Alg. Géogr.*, 3<sup>ème</sup> A., 6: 1-27.
- Le Houérou HN. 1986.** The desert and arid zones of Northern Africa. In: Evenari M, Noy-Meir E & Goodall DW (Eds.): *Hot Deserts and Arid Shrublands*, Vol. B, Ch. 4, pp.101-147. *Ecosystems of the World*. Vol.12 B., Elsevier. Amsterdam.
- Le Houérou HN. 1989.** Classification écoclimatique des zones arides (s.l.) de l'Afrique du Nord. *Ecol. Médit.* 15: 95-144.
- Le Houérou HN. 1990. **Définition et limites bioclimatiques du Sahara. Sécheresse 1: 246 - 259.**
- Le Houérou HN. 1992.** Outline of the biological history of the Sahara. *J. Arid Environ.* 22: 3-30.
- Le Houérou HN. 1993.** Changements climatiques et désertisation. *Sécheresse 4:* 95-111.
- Le Houérou HN. 1995a.** Considérations biogéographiques sur les steppes arides du Nord de l'Afrique. *Sécheresse 6:* 167-182.
- Le Houérou HN. 1995b.** Bioclimatologie et biogéographie des steppes arides du Nord de l'Afrique. Diversité biologique, développement durable et désertisation. *Options Médit. Sér. B n°10*, CIHEAM & ACCT. 396 p.
- Leredde CL. 1957.** Etude écologique et phytogéographique du Tassili n'Ajjer. *Mem. Miss. Sci. Tassili n'Ajjer*, IRS, Alger, 454 p.
- Lelubre M. 1952.** Conditions structurales et formes de relief dans le Sahara. *Trav. Inst. Rech. Sahara 8:* 189-238.
- Linné C. 1753.** *Species Plantarum*. Stockholm.1200 p.
- Lopes MS, Mendonça D, Sefc KM, Gil FS, da Câmara Machado A. 2004.** Genetic evidence of intra-cultivar variability within Iberian olive cultivars. *HortScience 39:* 1562-1565.
- Loumou A, Giourga C. 2003.** Olive groves: "The life and identity of the Mediterranean". *Agric. Hum. Values 20:* 87-95.
- Loussert P. Brousse H. 1978.** Techniques agricoles et production méditerranéennes (Olivier). Ed. Maison Larousse, 500 p.
- Maillard R. 1975.** L'olivier. Edition du Comité Technique de l'Olivier, Aix-en-Provence et Institut National de Vulgarisation pour les fruits, Légumes et Champignons. Paris, 147 p.
- Maire R. 1933.** Etude sur la flore et la végétation du Sahara central I et II. *Mém. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord*, n°3, mission du Hoggar II, 272 p. (cartes et planches), Alger.

- Maley J. 1980.** Les changements climatiques de la fin du Tertiaire en Afrique : Leur conséquence sur l'apparition du Sahara et de sa végétation. In "The Sahara and the Nile", MAJ Williams and H Faure Eds, AA Balkema, Rotterdam, pp 63-86.
- Marcotrigiano M. 2000.** Herbivory could unlock mutations sequestered in stratified shoot apices of genetic mosaics. *Amer. J. Bot.* **87**: 355-361.
- Mazzolani G, Altamura Betti MM. 1978.** Elementi per la revisione del genere *Olea* (Tourn.) Linn. II. Ciclo di *Olea chrysophylla* Lam. *Ann. Bot. (Roma)* **37**: 127-151
- Mazzolani G, Altamura Betti MM. 1981.** Osservazioni aggiuntive su alcune *Olea* africane. *Ann. Bot. (Roma)* **39**: 309-315.
- Médail F, Quézel P, Besnard G, Khadari B. 2001.** Systematics, ecology and phylogeographic significance of *Olea europaea* L. subsp. *maroccana* (Greuter & Burdet) P. Vargas *et al.*, a relictual olive tree in south-west Morocco. *Bot. J. Linn. Soc.* **137**: 249-266.
- Monod T. 1954.** Modes « contracté » et « diffus » de la végétation saharienne. In Cloudsly Thompson, J. L. (Ed.), *Biology of deserts*, London, pp. 35-44.
- Monod T. 1992.** Du désert. *Sécheresse* **3**: 7-24.
- Morgante M, Olivieri MM. 1999.** PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. *Plant J.* **3**: 175-182.
- Nei M. 1987.** *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Ortega N. 1935.** Características del polen y la variedad en el olivo. *Bull. Inst. Nac. Invest. Agron. Madrid* **3**: 23-32.
- Ortége N. 1963.** La podo del olivo. Ministeria de l'Agricultura, Madrid.
- Ortiz-Dorba J, Martínez-Mora C, Correal E, Simón B, Cenis JL. 2005.** Genetic structure of *Atriplex halimus* populations in the Mediterranean Basin. *Ann. Bot. (Lond.)* **95**: 827-834.
- Ozenda P. 1958.** La végétation ligneuse du Sahara. *Rivières et Forêts*, Cahier n°9/10, 11 p.
- Ozenda P. 1982.** *Les végétaux dans la biosphère*. Ed. Doin, Paris, 431 p.
- Ozenda P. 1986.** *La cartographie écologique et ses applications*. Ed. Masson, Paris, 160 p.
- Ozenda P, Santa S. 1990.** *Flore du Sahara*. Ed. CNRS, Paris, 622 p. + 1 carte h.t.
- Ozenda P. 1991.** Les relations biogéographiques des montagnes sahariennes avec la région méditerranéenne. *Géographie Alpine* **1**: 40-53.
- Petit RJ, Arguinagald I, De Beaulieu JL, Bittkau C, Brewer S, Cheddadi R, Ennos R, Fineschi S, Grivet D, Lascoux M, Mohnaty A, Müller-Starck G, Demesure-Mush B, Palmé A, Martin JP, Rendell S, Vendramin GG. 2003.** Glacial refugia : hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science* **300**: 1563-1565.
- Parks JC, Werth CR. 1993.** A study of spatial features of clones in a population of bracken fern, *Pteridium aquilinum* (Dennstaedtiaceae). *Amer. J. Bot.* **80**: 120-126.
- Pichot C, El Maataoui M, Raddi S, Raddi P . 2001.** Surrogate mother for endangered Cupressus. *Nature* **412**: 39.

- Pons A, Quézel P. 1957.** Première étude palynologique de quelques paléosols sahariens. *Trav. Inst. Rech. Sahara* **16**: 16-40.
- Pons A, Quézel, P. 1958.** Premières remarques sur l'étude palynologique d'un guano fossile du Hoggar. *C. R. Acad. Sci. Paris* **244**: 2290-2292.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. 2000.** Inference of population structure from multilocus genotype data. *Genetics* **155**: 945-959.
- Provan J, Soranzo N, Wilson NJ, Goldstein B, Powell W. 1999.** A low mutation rate for chloroplast microsatellites. *Genetics* **153**: 943-947.
- Quézel P. 1954.** Contribution à l'étude de la flore et de la végétation du Hoggar. Monographies Régionales 2. *Trav. Inst. Rech. Sahara*, Alger, 164 p.
- Quézel P. 1956.** Contribution à la flore de l'Afrique du Nord. VI : contribution à l'étude de la flore de la Tefedest (Hoggar). *Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique Nord* **47**: 131-136.
- Quézel, P. 1957.** Les groupements végétaux du massif de la Tefedest (Sahara central). *Trav. Inst. Rech. Sahara* **15**: 43-63.
- Quézel P. 1958.** Mission botanique au Tibesti. *Inst. Rech. Sah. Mém. n°4*. 357 p. + 26 photos.
- Quézel P. 1961.** Contributions à la flore de l'Afrique du Nord. VI: contribution à la flore du Sahara. *Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique Nord* **52**: 225-232.
- Quézel P, Santa S. 1962-1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed. CNRS, Paris, Tomes 1 & 2, 1170 p.
- Quézel P. 1965.** La végétation du Sahara. Du Tchad à la Mauritanie. Eds. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 333 p.
- Quézel P. 1978.** Analysis of the flora of Mediterranean and Sahara Africa. *Ann. MO Bot. Gard.* **65**: 479-534.
- Quézel P, Barbéro M. 1993.** Variations climatiques au Sahara et en Afrique sèche depuis le Pliocène: enseignements de la flore et de la végétation actuelles. *Bull. Ecol.* **24**: 191-202.
- Quézel P. 1995.** La flore du Bassin Méditerranéen : origine, mise en place, endémisme. *Ecol. Médit.* **21**: 19-39.
- Quézel P. 1997.** High mountains of the Central Sahara: Dispersal, speciation, origin and conservation of the flora. In: *Reviews in Ecology: Desert Conservation and Development*, HN Barakat & AK Hegazy (eds.), Metropole, Cairo, Egypt, pp. 159-175.
- Rallo P, Tenzer I, Gessler C, Baldoni L, Dorado G, Martín A. 2003.** [Transferability of olive microsatellite loci across the genus \*Olea\*](#) . *Theor. Appl. Genet.* **107**: 940-946.
- Rodríguez López CM, Wetten AC, Wilkinson MJ. 2004.** Detection and quantification of *in vitro*-culture induced chimerism using simple sequence repeat (SSR) analysis in *Theobroma cacao* (L.). *Theor. Appl. Genet.* **110**: 157-166.
- Roland J.-C. & Roland F. 1977.** Atlas de biologie végétale. Ed. Masson (Paris), 72p.
- Rohwer JG. 1993.** A preliminary survey of the fruits and seeds of the *Oleaceae*. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* **115**: 271-291.



- Riaz S, Garrison KE, Dangl GS, Boursiquot JM, Meredith CP. 2002.** Genetic divergence and chimerism within ancient asexually propagated winegrape cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **127**: 508-514.
- Rubio de Casas R, Besnard G, Schoenswetter P, Balaguer L, Vargas P. 2006.** Extensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea* L. *Theor. Appl. Genet.* **113**: 575-583.
- Ruby J. 1917.** Monographie des variétés d'olivier françaises. Extrait de thèse, Faculté des sciences de Paris, 32 p.
- Sahki, A. 1990-1999.** Rapports de mission en Ahaggar. Doc. Int. INRF. Tamanrasset.
- Santoni S, Faivre Rampant P, Prado E, Prat D. 2000.** Marqueurs moléculaires pour l'analyse des ressources génétiques et l'amélioration des plantes. *Cahiers d'Etudes et de Recherche Francophones / Agricultures* **9**: 311-327.
- Saumitou-Laprade P, Vassiliadis C, Epplen JT, Hardt C. 2000.** Isolation of microsatellite loci for paternity testing in *Phillyrea angustifolia* L. (Oleaceae). *Mol. Ecol.* **9**: 112-114.
- Savornin J. 1934.** Notice géologique sur le Sahara central: introduction aux mémoires de la mission scientifique du Hoggar. Mém. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord, 5. Mission du Hoggar IV. Alger. 31 p.
- Schuster M., Durringer P., Ghienne J.-F., Vignaud P., Mackaye H.T., Likius A., Brunet M. 2006.** The age of the Sahara Desert. *Science* **311**:821
- Schwendiman J. 1989.** Manuel d'histologie végétale. Laboratoire de cytologie et histologie végétale, CIRAD. 61 p.
- Sefc KM, Lopes MS, Mendonça D, Rodrigues dos Santos M, Laimer da Câmara Machado M, da Câmara Machado A. 2000.** Identification of microsatellite loci in olive (*Olea europaea*) and their characterization in Italian and Iberian olive trees. *Mol. Ecol.* **9**: 1171-1173.
- Servant M. 1973.** Séquences continentales et variations climatiques : évolution du bassin du Tchad au Cénozoïque supérieur. Thèse Sc., Paris, 348 p.
- Setsuko S, Ishida K, Tomaru N. 2004.** Size distribution and genetic structure in relation to clonal growth within a population of *Magnolia tomentosa* Thunb. (Magnoliaceae). *Mol. Ecol.* **13**: 2645-2653.
- Sork VL, Davis FW, Smouse PE, Apsit VJ, Dyer RJ, Fernandez-M JF and Kuhn B. 2002.** Pollen movement in declining populations of California Valley oak, *Quercus lobata*: where have all the father gone? *Mol. Ecol.* **11**: 1657-1668.
- Taylor H. 1945.** Cyto-taxonomy and phylogeny of the *Oleaceae*. *Brittonia* **5**: 337-367.
- Terral JF, Alonso N, Capdevila RBI, Chatti N, Fabre L, Fiorentino G, Marinval P, Perez Jorda G, Pradat B, Rovira N, Alibert P. 2004.** Historical biogeography of olive domestication (*Olea europaea* L.) as revealed by geometrical morphometry applied to biological and archaeological material. *J. Biogeogr.* **31**: 63-77.
- Vargas P, Munoz Garmendia F, Hess J, Kadereit JW. 2001.** *Olea europaea* ssp *guanchica* and ssp *maroccana* (oleaceae), two new names for olive tree relatives. *Ann. Jard. Bot. Madrid* **58**: 360-361.

- Verlet B. 1974.** Le Sahara. Coll. Que sais-je ? n°766. Ed. PUF. Paris. 126 p.
- Wallander E, Albert VA. 2000.** Phylogeny and classification of *Oleaceae* based on *RPS 16* and *TRN L-F* sequence data. *Amer. J. Bot.* **87**: 1827-1841.
- Wang J, Hill WG, Charlesworth D, Charlesworth B. 1999.** Dynamics of inbreeding depression due to deleterious mutations in small populations: mutation parameters and inbreeding rate. *Genet. Res. (Cambr.)* **74**: 165-178.
- Weising K, Gardner RC. 1999.** A set of conserved PCR primers for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms. *Genome* **42**: 9-19.
- Wickens GE. 1976a.** The flora of Jebel Marra (Sudan) and its geographical affinities. *Kew Bull. Add. Ser.* **5**: 1-368
- Wickens GE. 1976b.** Speculations on long distance dispersal and the flora of Jebel Marra (Sudan). *Kew Bull.* **31**: 105-150.
- Yankowitch L, Berthelot P. 1947.** Rapport sur l'enracinement de l'olivier en Tunisie. *Ann. Serv. Bot. Tunis* **20**: 109-176.
- Zohary D, Hopf M. 2000.** Domestication of plants in the Old World. Clarendon Press, Oxford, UK.

---

# ANNEXES

## PARTIE A : Etude générale de quelques aspects biologiques

### - ANNEXE 1 : Biogéographie

Notons que dans le reste de l'Algérie, on trouve quelques pieds d'oliviers de *Laperrine* cultivés :

- au Jardin d'essai d'Alger, six pieds provenant de la station d'Hadriane issus par semis depuis 1999 ;

- au Jardin Botanique de l'INA d'Alger, un pied repiqué en 2005 et qui provenait du jardin d'essai d'Alger ;

- à la station de l'INRF de Tamanrasset, quatre individus issus de graines provenant de Tin Hamor ;

- à la station de l'ITAF (Institut Technologique d'Arboriculture Fruitière) de Tadmaït (Tizi Ouzou), un pied de *laperrinei* a été greffé sur un olivier de la variété Chemlal par Mme Khiali en 1996. Par contre, celui qu'elle a greffé sur l'oléastre dans la même année a vécu deux ans puis il s'est éteint par manque d'entretien. Ceci est signalé pour montrer que le problème de rejet de greffe ne se pose pas et qu'il est histocompatible avec l'olivier méditerranéen.

On peut trouver également certains spécimens de *laperrinei* conservés dans les grands herbiers tels que : Kew Garden en Grande Bretagne (pieds provenant en particulier du Soudan), du Museum de Paris, de Montpellier, de Genève et d'Alger (Sahara central, Algérie, Niger et Soudan).

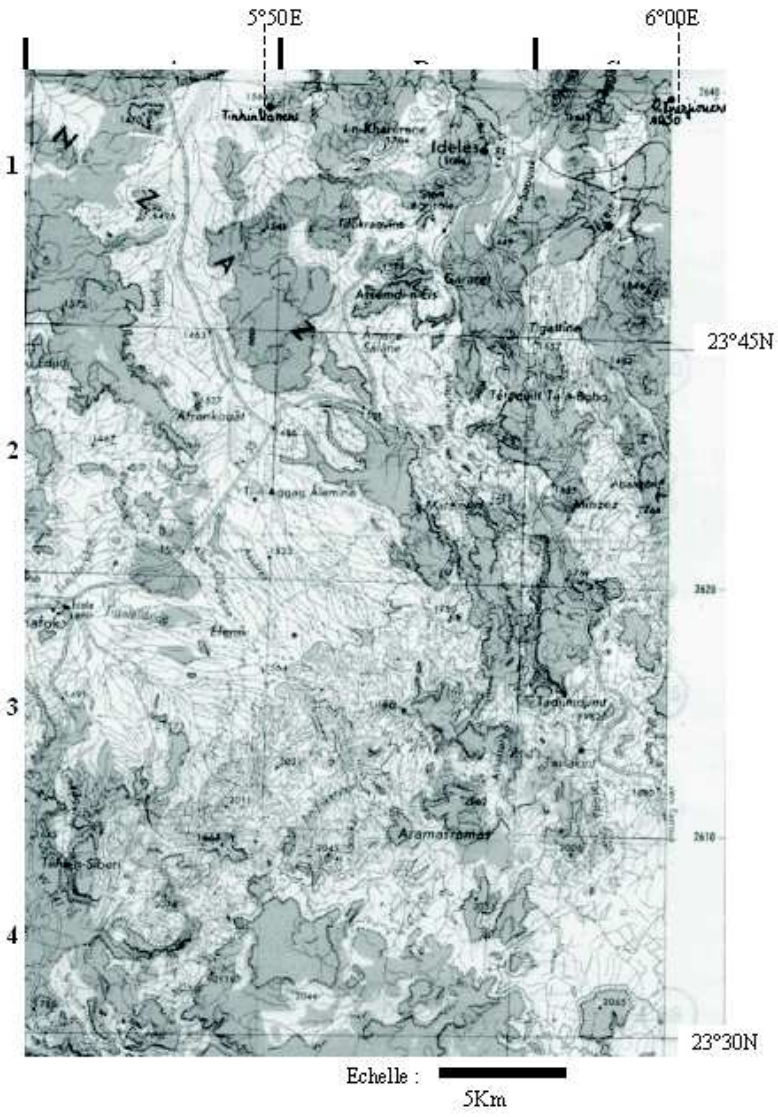


Figure A1. Carte d'une partie de la région de l'Assekrem dans le Hoggar montrant des stations de *laperrinei* (●)

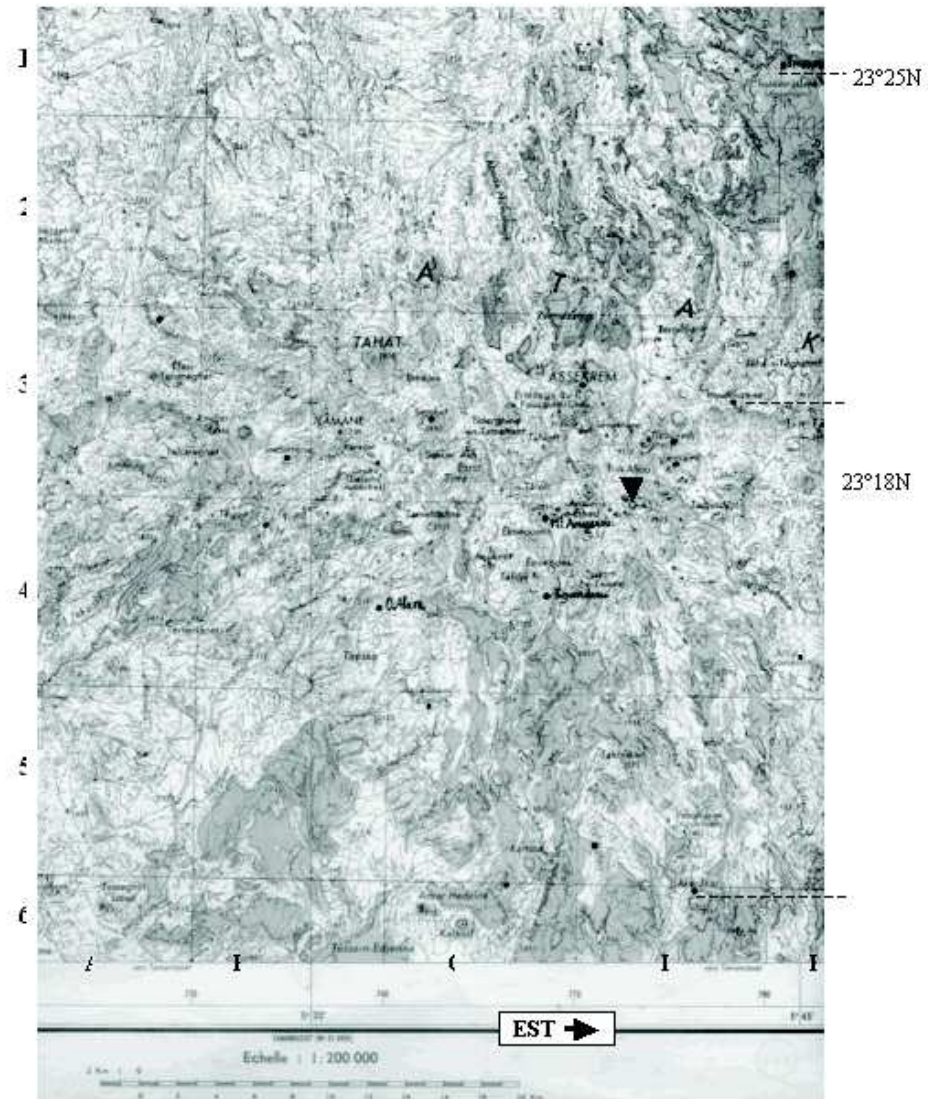


Figure A2. Carte géographique d'une région de l'Assekrem dans le Hoggar montrant des stations à *laperrinei* (● ; ▲).

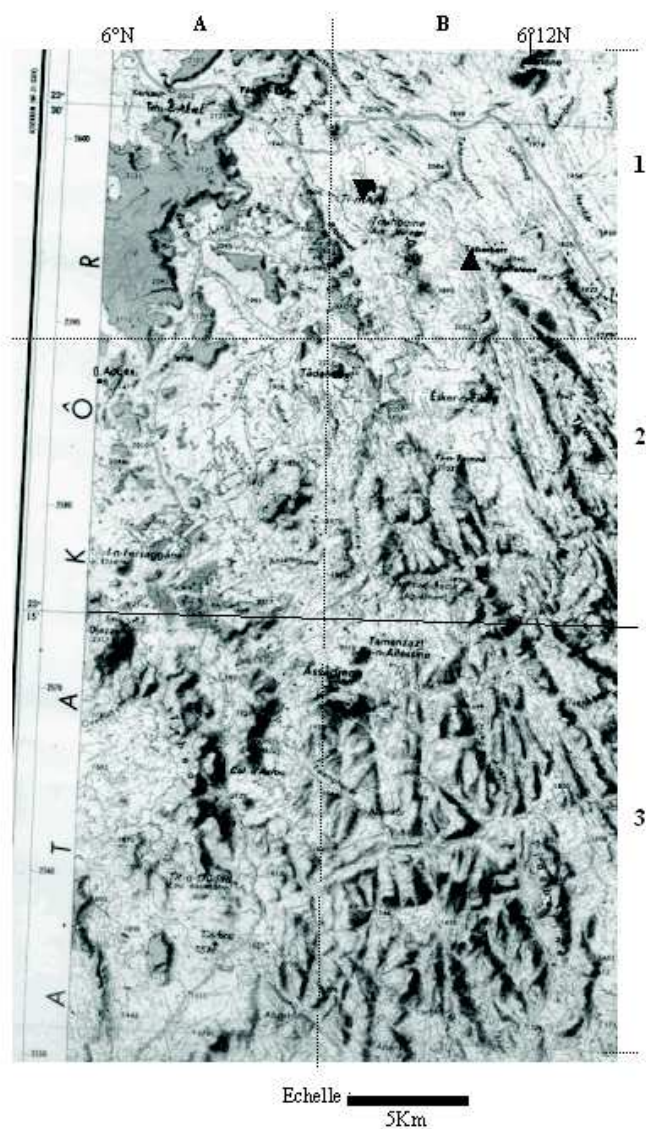


Figure A3. Carte géographique d'une région de Tazrouk dans le Hoggar montrant les stations de *laperrinei* (● ; ▲).

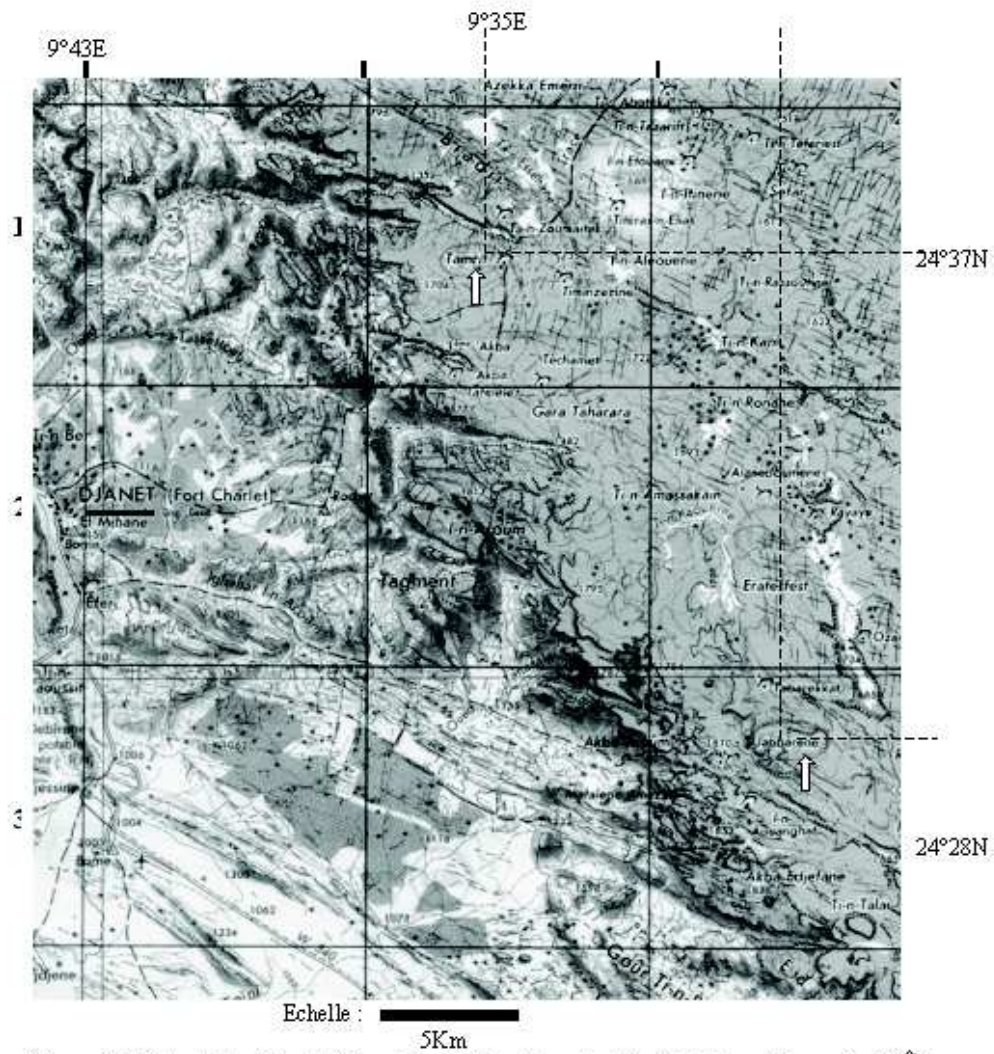


Figure A4. Carte de la région de Djanet dans le Tassili montrant les 2 stations de *Laperrineia* (↑) (Tamrit et Jabbarene).

Figure A5. Carte géographique d'une partie de l'Assekrem dans le Hoggar montrant les stations de *Laperrineia* (●)

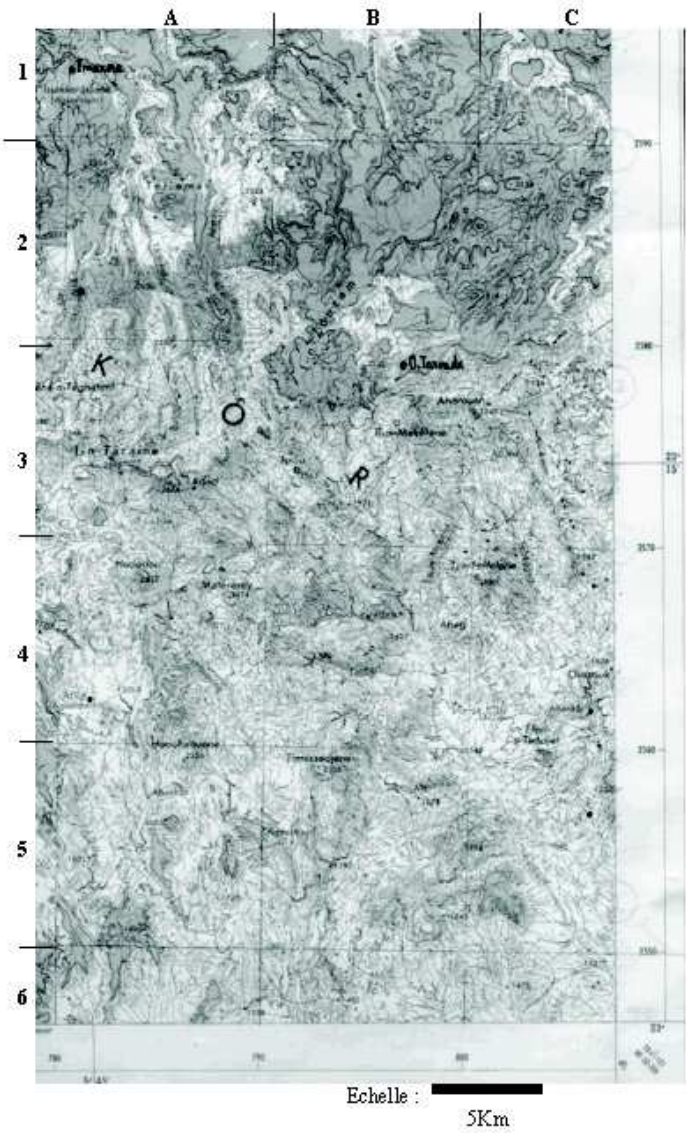


Figure A5. Carte géographique d'une partie de l'Assekrem dans le Hoggar montrant les stations de *laperrinei* (●)



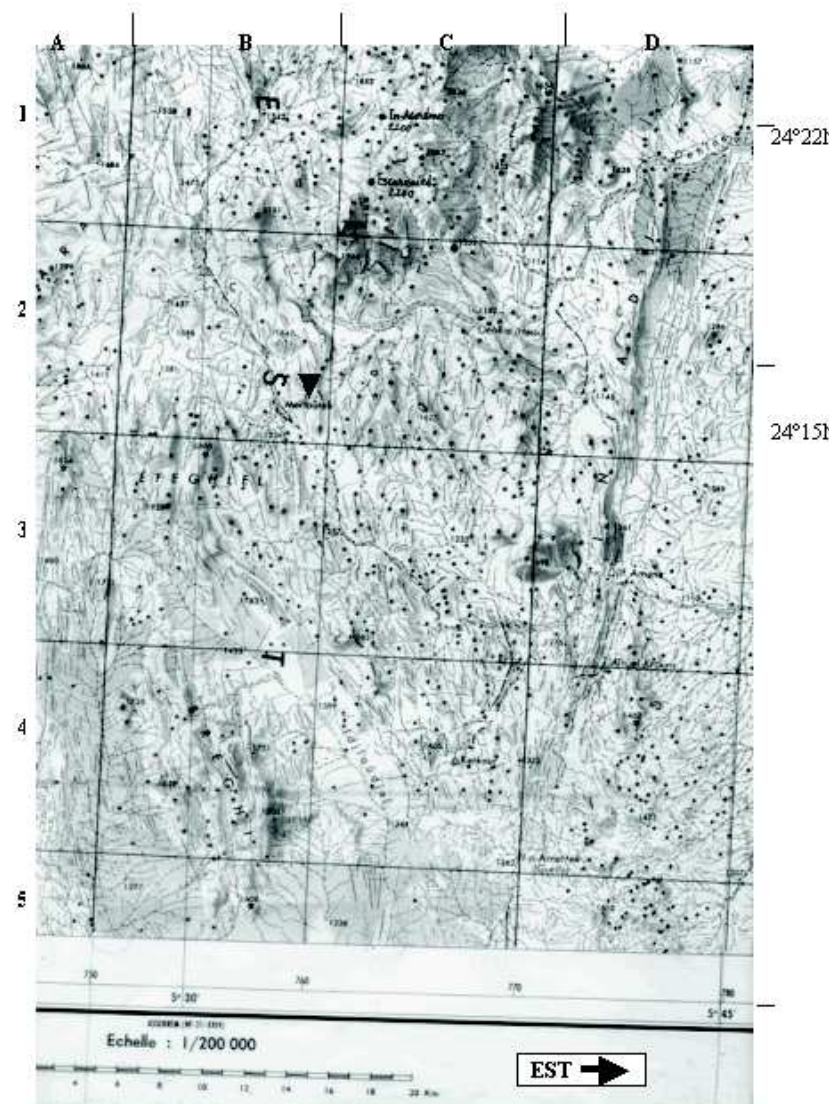


Figure A6. Carte géographique d'une région de I-N-Iker dans le Hoggar montrant des stations de *Laperrine* (●▲).

**PARTIE B : Apport de l'outil moléculaire dans l'étude des populations de l'olivier de Laperrine et de leurs stratégies de reproduction**

## **ANNEXE 2 : Publication de Baali-Cherif Djamel & Besnard Guillaume**

## **ANNEXE 3 : Publication de Besnard Guillaume et al**

## **ANNEXE 4 : Les microsatellites**

Les marqueurs microsatellites ou SSR (« Simple Sequence Repeats ») sont constituées de répétitions en tandem de motifs mono, di, tri, ou tétranucléotides. Les plus courantes sont : (A)<sub>n</sub>, (AT)<sub>n</sub>, (GA)<sub>n</sub>, (GT)<sub>n</sub>, (TAT)<sub>n</sub>, (GATA)<sub>n</sub>, etc... La valeur de n pouvant aller de quelques unités à plusieurs dizaines. De tels motifs sont très abondants dans le génome des organismes eucaryotes. Chez les végétaux supérieurs, les premières estimations indiquent qu'il y aurait en moyenne un microsatellite dinucléotidique tous les 30 à 100 kb (Morgante & Olivieri, 1999). Un motif microsatellite n'est pas spécifique d'un locus ; en revanche, les séquences bordantes le sont. Une paire d'amorces oligonucléotidiques de ces régions bordantes permettra grâce à la PCR, d'amplifier ce seul locus microsatellite et de disposer ainsi d'un marqueur microsatellite. Le polymorphisme de longueur sera révélé par électrophorèse sur un gel d'acrylamide ou d'agarose à haute résolution.

## **ANNEXE 5 : PCR/RFLP**

La technique PCR/RFLP (« Polymerase Chain Reaction/Restriction Fragment Length Polymorphism ») ou CAPS (« Cleaved Amplified Polymorphic Sequence ») consiste à digérer un fragment amplifié par PCR avec une ou plusieurs enzymes de restriction à site de reconnaissance tétra- ou hexa-nucléotidique et à révéler le polymorphisme des sites de restriction par électrophorèse sur un gel d'agarose ou d'acrylamide.

## **ANNEXE 6 : Préparation du gel d'acrylamide (à 5%)**

La solution du gel est constituée de 8,4 g d'urée, 10 ml d'eau distillée, 4,7 ml de tampon TBE 5X et 2,4 ml d'acrylamide (Long Ranger gel solution, Bioconcept). Pour la polymérisation, on ajoute 120 µl d'ammonium persulfate (à 100 mg/ml) et 12 µl de Temed. La solution obtenue est coulée entre deux plaques de verre préalablement bien nettoyées avec de l'isopropanol. Le gel est laissé polymériser pendant au moins 1 heure puis est placé sur le séquenceur ABI-377 (Applied Biosystems). Les produits de la PCR sont déposés dans les puits. La migration se fait dans un tampon TBE 1X.

## **ANNEXE 7 : Tableau des matrices des populations du Hoggar et du Tassili(tableau A1)**

**Tableau A1.** Matrices donnant les profils alléliques en paires de base pour les différents microsatellites de l'ADN nucléaire et l'haplotype chloroplastique des individus des populations du Hoggar et du Tassili

## ANNEXE 8 : F-statistiques

Le rôle de la migration et la différenciation des populations sont caractérisés par les F-statistiques de Wright (1931) ou indices de fixations de Wright. Pour cela, Wright a défini trois indices fondés sur le calcul des hétérozygoties observés ( $H_O$ ) et attendues ( $H_E$  ou  $H_s$ ) sous l'hypothèse de Hardy-Weinberg (\*), à savoir : le  $F_{IT}$ , le  $F_{IS}$  et le  $F_{ST}$ . Un des avantages de l'utilisation des F-statistiques réside dans la réalisation de tests de significativité des valeurs calculées.

(\*) : Cette hypothèse considère une population modèle caractérisée par une taille infinie, pas de mutation, pas de migration, pas de sélection (neutralité) et la reproduction sexuée se fait avec la rencontre des gamètes au hasard (panmixie).

- Le  $F_{IS}$  mesure le déficit en hétérozygotes local moyen sur l'ensemble des sous populations et au régime de reproduction panmictique ou non.

$$F_{IS} = 1 - H_O/H_S \quad \text{avec} \quad -1 < F_{IS} < +1$$

$F_{IS} = 0$  ; si les populations sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg.

$F_{IS} < 0$  ; les sous populations présentent un excès d'hétérozygotes.

$F_{IS} > 0$  ; les sous populations présentent un déficit d'hétérozygotes.

- Le  $F_{ST}$  mesure l'effet de Wahlund, qui caractérise le déficit en hétérozygotes qui est dû à la subdivision de la population totale en sous populations (ou à la structuration génétique).

$F_{ST} = 1 - H_S/H_T$  où  $H_T$  représente l'hétérozygotie totale

Le  $F_{ST}$  varie de 0 (pas de structuration) à 1 (toutes les sous populations sont fixées pour l'un ou l'autre allèle).

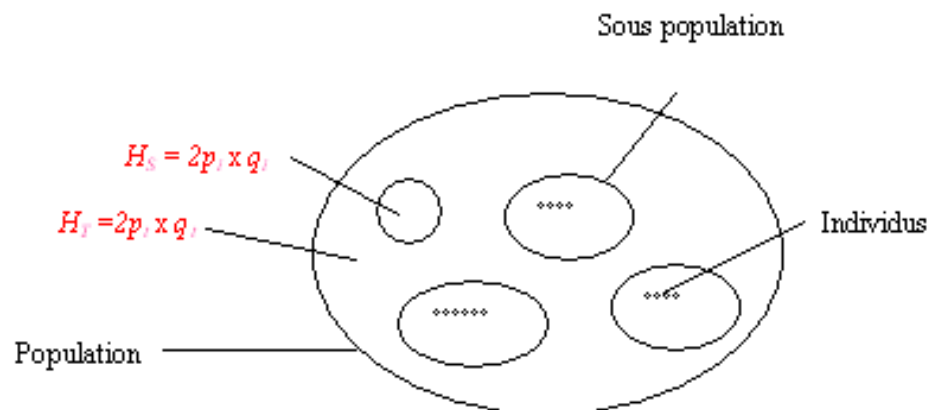
- Le  $F_{IT}$  résulte des 2 précédentes relations ( $F_{IS}$  et  $F_{ST}$ ). Il donne la réduction globale entre l'individu et la population.

$$F_{IT} = 1 - H_O/H_T \quad \text{avec} \quad -1 < F_{IT} < +1$$

Ces indices sont reliés entre eux par la relation suivante :  $(1 - F_{IT}) = (1 - F_{IS})(1 - F_{ST})$

- Si toutes les populations sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg,  $F_{IS} = 0$  et  $F_{IT} = F_{ST}$  ;

- Si toutes les populations sont à l'équilibre de Hardy-Weinberg et ont les mêmes fréquences alléliques, ces indices ont des valeurs nulles.



Subdivision de la population en sous populations et individus  
( $i$  et  $t$  = allèles ;  $p$  et  $q$  = fréquence des allèles)

## ANNEXE 9 : Bouturage

Pieds d'oliviers de Laperrine issus par bouturage, provenant de quelques stations du Hoggar (cultivés dans la pépinière de la station de l'INRF de Tamanrasset).



## ANNEXE 10 : Coût de la thèse (estimation)

7 Sorties sur terrain (billet, hébergement, restauration etc.) .....	700.000 DA
Frais de labo (primers, gel, produits chimiques etc.).....	200.000 DA
Frais des publications.....	80.000 DA
Frais d'impression.....	10.000 DA
Frais divers.....	10.000 DA
<b>Total.....</b>	<b>1.000.000 DA</b>